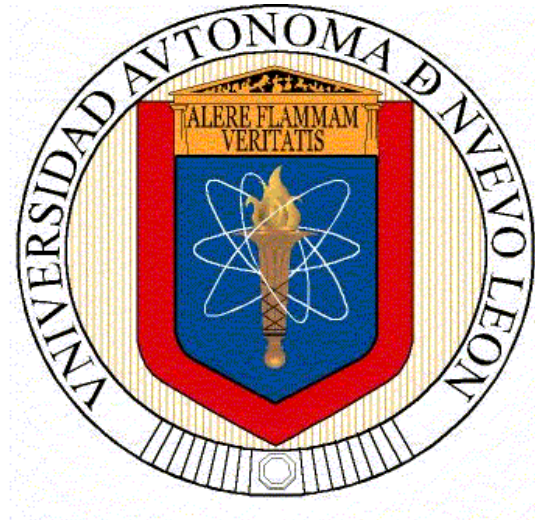


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**TESIS**

**DESARROLLO DE UN PROCESO PARA LA ELABORACIÓN  
DE QUESO CON BAJO COLESTEROL**

**PRESENTA**

**MARÍA GUADALUPE MARTÍNEZ CADENA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**ENERO, 2016**

	<b>Pag.</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	i
<b>Índice de Tablas</b> .....	iii
<b>Índice de Figuras</b> .....	iv
<b>Abreviaturas</b> .....	v
<b>Resumen</b> .....	vi
<b>I. Marco Teórico</b> .....	1
I.1. Definición del problema.....	1
I.2. Antecedentes.....	3
I.2.1. Homeostasis del colesterol.....	3
I.2.2. Queso.....	6
I.2.3. Nutrientes y micronutrientes de los quesos.....	9
I.2.4. Métodos de reducción de colesterol en productos lácteos.....	12
I.2.5. $\beta$ -Ciclodextrinas.....	13
I.2.6. Uso de $\beta$ -ciclodextrinas para remover el colesterol .....	14
I.2.7. Análisis Sensorial .....	16
I.2.8. Tipos de Pruebas Sensoriles.....	17
I.2.9. Propiedades Sensoriales del Queso .....	18
I.3. Justificación.....	21
I.4. Hipótesis.....	22
I.5. Objetivo general.....	22
I.6. Objetivos específicos.....	22
<b>II. Material y Métodos</b> .....	23
II.1. Remoción de colesterol de la leche.....	23
II.1.1. Remoción de colesterol de la crema de la leche.....	23
II.1.2. Remoción de colesterol de la leche.....	23
II.2. Elaboración de queso.....	23
II.3. Contenido de humedad .....	23
II.4. Determinación de la concentración de proteínas .....	25
II.5. Determinación de la concentración de lípidos.....	25
II.6. Determinación de la concentración de colesterol.....	25

II.6.1. Cremas.....	25
II.6.2. Quesos .....	26
II.7. Calidad microbiológica de quesos.....	28
II.7.1. Cultivo para bacterias coliformes .....	28
II.7.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
II.7.3. Hongos y levaduras.....	28
II.7.4. <i>Salmonella</i> .....	28
II.7.5. <i>Listeria</i> .....	28
II.8. Propiedades Sensoriales del queso.....	28
II.9. Análisis estadístico.....	29
<b>III. Resultados</b> .....	30
III.1. Remoción de colesterol de la crema.....	30
III.2. Elaboración del queso asadero.....	32
III.3. Análisis proximal de los quesos .....	32
III.4. Concentración de colesterol en los quesos elaborados a partir de crema sin o con tratamiento con $\beta$ -ciclodextrinas.....	33
III.5. Remoción del colesterol de la leche.....	35
III.6. Análisis microbiológico de los quesos.....	39
III.7. Análisis sensorial de los quesos.....	40
III. 7.1. Prueba de diferenciación triangular.....	40
III.7.2. Pruebas afectivas.....	40
<b>IV. Discusión</b> .....	45
<b>V. Conclusiones</b> .....	51
<b>VI. Perspectivas</b> .....	52
<b>VII. Referencias</b> .....	53

## Índice de Tablas

Tabla 1. Valores de colesterol en sangre.....	6
Tabla 2. Clasificación de los quesos según su consistencia.....	8
Tabla 3. Comparación de cantidad de nutrientes de diferentes quesos por cada 100 gramos.....	11
Tabla 4. Tipos de quesos que se consumen de en México.....	12
Tabla 5. Análisis proximal de quesos elaborados con leche entera.....	33
Tabla 6. Concentración de colesterol en quesos asaderos elaborados a partir de crema tratada sin o con tratamiento con $\beta$ -ciclodextrinas.....	35
Tabla 7. Concentración de colesterol en quesos asaderos elaborados a partir de leche tratada sin o con tratamiento con $\beta$ -ciclodextrinas.....	37
Tabla. 8. Cuenta viable de microorganismos de quesos.....	39
Tabla 9. Calidad microbiológico durante vida de anaquel.....	40
Tabla 10. Valores de Chi-cuadrada para la prueba triangular de diferentes atributos de los quesos control y con $\beta$ -ciclodextrinas.....	40
Tabla 11. Comentarios y sugerencias de los panelistas con respecto a cambios sugeridos para mejorar los quesos.....	43

## Índice de Figuras

Fig. 1. Homeostasis global del colesterol en el organismo.....	3
Fig. 2. $\beta$ -Ciclodextrinas.....	13
Fig. 3. Proceso de producción del queso.....	24
Fig. 4. Remoción de colesterol de la crema de leche incubada con diferentes concentraciones de ciclodextrinas y a diferentes tiempos de interacción con ésta .....	30
Fig. 5. Remoción de colesterol de la crema de leche incubada con 10 % de $\beta$ -ciclodextrinas a diferentes tiempos de interacción.....	31
Fig. 6. Queso asadero elaborado con leche entera de vaca.....	32
Fig. 7. Patrón de elución de los estándares de colestano y colesterol en columna Ultra 2 por cromatografía de gases.....	33
Fig. 8. Patrón de elución por cromatografía de gases de las muestras de quesos elaborados con o sin tratamiento de la crema con ciclodextrinas.....	34
Fig. 9. Quesos elaborados a partir de leche entera sin (a) o con tratamiento con $\beta$ -ciclodextrinas (b).....	36
Fig. 10. Patrón de elución por cromatografía de gases de muestras de quesos elaborados a partir de leche sin o con tratamiento con ciclodextrinas al 1 %.....	37
Fig. 11. Proceso desarrollado para la remoción de colesterol previo a la elaboración de queso asadero con bajo contenido en colesterol.	38
Fig. 12. Análisis de agrado entre el queso preparado con leche entera sin (Control) y leche tratada con $\beta$ CD (Con $\beta$ CD).....	41
Fig. 13. Aceptación del queso control y queso elaborado de leche entera tratada con $\beta$ -ciclodextrinas.....	42
Fig. 14. Evaluación integral de los panelistas de los quesos control y con $\beta$ -CD.....	44

## ABREVIATURAS

<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>EtOH</b>	Alcohol etílico
<b>AOAC</b>	Association of Analytical Chemists
<b>β-CD</b>	β-ciclodextrinas
<b>° C</b>	Grados Celsius
<b>g</b>	Gramo
<b>KOH</b>	Hidróxido de potasio
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad
<b>μL</b>	Microlitro
<b>mg</b>	Miligramo
<b>mg/g</b>	Miligramo por gramo
<b>mg/mL</b>	Miligramo por mililitro
<b>mL</b>	Millilitro
<b>min</b>	Minuto
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>s</b>	Segundo
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sodio
<b>T.A.</b>	Temperatura ambiente

## RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud reportó que el 19.2 % de la población mexicana entre 40 y 79 años presentaban valores altos de colesterol sérico (colesterol  $\geq$  200 mg/dL) y ha sugerido una ingesta máxima de 300 mg de colesterol al día. El queso asadero se considera como queso con alto contenido de grasas con 28 g de lípidos y 105 mg de colesterol por cada 100 g de queso, por lo que la producción de éste con bajo contenido en colesterol es una buena alternativa para no excluirlo de la dieta. Se han estudiado métodos físicos, químicos y biológicos para reducir el colesterol en los alimentos, incluyendo los productos lácteos. Algunos estudios han indicado que la eliminación del colesterol de la leche, el queso crema y el queso mozzarella se logra con una alta efectividad por el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas ( $\beta$ -CD). Éstas no son tóxicas, son comestibles, no higroscópicas, químicamente estables y fáciles de separar del alimento, lo que le confiere atributos positivos cuando son utilizadas para la eliminación del colesterol de los alimentos.

En este proyecto se elaboró queso con bajo contenido en colesterol mediante el tratamiento de la crema de leche o de la leche entera con  $\beta$ -CD. Las características fisicoquímicas encontradas en quesos sin y con tratamiento de  $\beta$ -CD fueron las siguientes: a) humedad de  $48 \pm 2.6$  % y  $46.3 \pm 1.6$  %, b) lípidos de  $15.4 \pm 4.2$  g y  $13.8 \pm 4.5$  g y c) proteínas de  $24.9 \pm 2.6$  g y  $25.1 \pm 3.3$  g por 100 g de queso asadero, respectivamente. Estos datos indican que el tratamiento con  $\beta$ -CD no alteró las características fisicoquímicas de estos quesos y no existen diferencias significativas entre las características de humedad, lípidos y proteínas entre los quesos control y aquéllos con bajo contenido en colesterol.

En el análisis microbiológico de los quesos sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD se encontraron los siguientes resultados: a) el contenido de bacterias coliformes fecales fue de 175 y 545 UFC/g, b) *Staphylococcus aureus*, 36 y 188 UFC/g respectivamente. No se detectaron mohos y levaduras, ni *Salmonella*, ni *Listeria monocytogenes* en los quesos control y aquellos elaborados con presencia de  $\beta$ -CD. El contenido de bacterias coliformes en los quesos elaborados sin y con tratamiento de la crema con ciclodextrinas sobrepasaron los valores permitidos por la NOM-243 para quesos frescos. Sin embargo, éstos disminuyeron a lo largo de la vida de anaquel a 45 UFC/g a los 30 días de almacenamiento de los quesos (valor permitido en la NOM-243-SSA1-2010). Por lo tanto, el análisis microbiológico de ambos quesos, tratados y no tratados, mostró que éstos

cumplen con las especificaciones de la normatividad del país en lo respecta a ausencia de patógenos.

La concentración de colesterol determinada en ambos quesos fue muy variable y sin diferencia estadísticamente significativa, cuando el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas se realizó en la crema de la leche, lo cual nos condujo a elaborar queso a partir de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas. El queso elaborado bajo estas condiciones mostró una disminución en la concentración del colesterol del 42 %, estadísticamente significativa.

La prueba de diferenciación triangular realizada a los quesos control y el elaborado a partir de leche tratada con ciclodextrinas reveló que los panelistas no fueron capaces de distinguir entre los quesos. Por otra parte, en cuanto a los atributos de color, aroma, textura y sabor no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados indican que la remoción de colesterol del queso no afecta atributos de color, aroma, textura sabor y que el método utilizado ente trabajo es una alternativa adecuada para la elaboración de queso asadero con bajo contenido en colesterol.



## **I. Marco Teórico**

### **I.1. Definición del problema**

Las muertes mundiales por causas cardiovasculares son atribuibles a algunos factores de riesgo modificables, por ejemplo, la presión arterial alta, (la más importante), el tabaquismo y el colesterol total sérico alto (Schaefer, 2002). En la población mexicana, el incremento en la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular explica la incidencia de las enfermedades cardiovasculares, que pueden y deben evitarse si controlamos o suprimimos los factores de riesgo modificables como la obesidad, la vida sedentaria, la hipertensión arterial sistémica, la diabetes mellitus tipo 2, el tabaquismo y, fundamentalmente, las dislipidemias (Lara et al., 2004; Secretaría de Salud, 2012).

En un estudio realizado en 6 centros urbanos con población mayor de 1 millón de habitantes (México, D. F., Guadalajara, León, Puebla, Monterrey y Tijuana) se encontró que la prevalencia global de hipercolesterolemia (colesterol  $\geq 200$  mg/dL) resultó ser de un 43.3 % para una población de  $44.1 \pm 13.2$  años de edad (Lara, Rosas, Pastelín, Aguilar, Attie y Velázquez Monroy, 2004). En otro estudio realizado en 833 hombres y 889 mujeres en la ciudad de México, la prevalencia de hipercolesterolemia con valores de 240 mg/dL o más fue de 16.4%, incrementándose ésta con la edad, y una proporción nada despreciable (34.1 %) tuvo valores de 200 a 239 mg/dL (Escobedo-de la Peña, Perez, Schargrotsky y Champagne, 2014). Organización Mundial de la Salud reportó que el 19.2 % de la población mexicana estudiada entre 40 y 79 años presentaban valores altos de colesterol sérico (Roth, Fihn, Mokdad, Aekplakorn, Hasegawae y Lim, 2011).

Por otra parte, se ha reportado que la relación entre el colesterol de la dieta y las concentraciones de colesterol en el plasma es muy compleja. Sin embargo, el colesterol junto con la grasa saturada son factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares, por lo que la Organización Mundial de la Salud y la Asociación Americana del Corazón, así como la Norma Oficial Mexicana han sugerido que el colesterol en la dieta debe restringirse para ingerir  $\leq 300$  mg/día (revisado por Schaefer, 2002; Secretaria de Salud, 2012). Debido a lo anterior mucho consumidores están preocupados por el consumo excesivo de colesterol y grasas en su dieta diaria, lo que ha traído como consecuencia un aumento dramático en el número de productos sin colesterol, reducido o bajo contenido de éste (revisado por Schroeder y Baer, 1990).

Se ha demostrado que una ingesta de colesterol de 250 mg/1000 calorías elevará el colesterol en plasma en aproximadamente 10 mg/dL, entonces se debería esperar un impacto de la reducción de la ingesta de colesterol de 500 mg/día, a la actualmente recomendada de 300 mg/día. En un estudio realizado en hombres estadounidenses, en un lapso de 15 años se cambió para una ingesta calórica de 2000 a 2500 cal/día, la concentración de colesterol de 500 a 300 mg/dL y se encontró después de este tiempo, una reducción en el colesterol total en plasma de aproximadamente 6 a 10 mg/dL (revisado por Grundy, Barrett-Connor y Rudel, 1988). Algunos han especulado que este cambio en el nivel de colesterol ha sido debido a una disminución de la ingesta de colesterol de la dieta. De acuerdo con los datos de Keys y col. (1957), el decremento en la ingesta de colesterol de 500 a 300 mg/dL resultaría en una disminución de 8 a 10 mg/dL en los valores de colesterol plasmático, quizás sólo 5 a 6 mg/dL. Si lo anterior es cierto, la reducción de 200 mg/día en la ingesta de colesterol resultaría en reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular en sólo 5 %. Aunque este es un valor de cambio muy pequeño, no es trivial cuando se aplica a la población completa (Keys et al., 1957).

Actualmente, muchos de los consumidores están preocupados por la ingesta excesiva de colesterol ya que se ha reportado que existe una fuerte correlación positiva entre el aumento en la concentración de colesterol sérico y el riesgo de enfermedades con trastornos cardiopáticos coronarios (Cofan-Pujol, 2014). Por lo tanto, se han estudiado métodos físicos, químicos y biológicos para reducir el colesterol en los alimentos, incluyendo los productos lácteos.

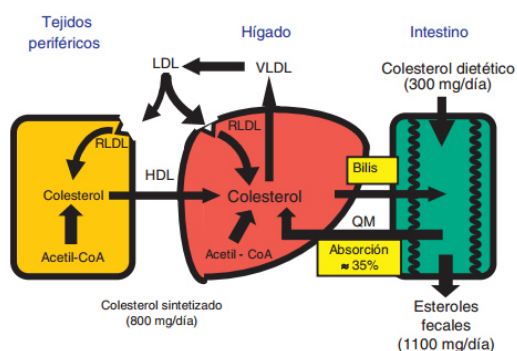
Los alimentos de origen animal, carne, huevos y productos lácteos son alimentos que aportan una cantidad considerable de colesterol, de estos últimos, en particular, la mantequilla y quesos grasos (revisado por Mataix y Vidal Carou, 2009). Un número de estudios han indicado que la eliminación del colesterol de la leche, el queso crema y el queso mozzarella se logra con una alta efectividad por el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas ( $\beta$ -CD). Éstas no son tóxicas, son comestibles, no higroscópicas, químicamente estables y fáciles de separar, lo que le confiere atributos positivos cuando son utilizadas para la eliminación del colesterol de los alimentos (Szejtli, 1998; Lee, Ahn y Kwak, 1999; Alonso, Cuesta, Fontecha, Juarez y Giililand, 2009; Tahir y Lee, 2013).

## I.2. Antecedentes

### I.2.1. Homeostasis del colesterol

El colesterol es un esteroide que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados. Es un lípido esteroide, derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno (o esterano), constituido por cuatro anillos condensados o fusionados, denominados A, B, C y D, que presentan varias sustituciones: dos radicales metilo en las posiciones C-10 y C-13, una cadena alifática ramificada de 8 carbonos en la posición C-17, un grupo hidroxilo en la posición C-3 y una insaturación entre los carbonos C-5 y C-6. El colesterol es una molécula biológica muy importante que forma parte de la membrana celular, y contribuye a regular su fluidez. Además es un precursor para la síntesis de las hormonas esteroideas, vitamina D<sub>3</sub> y de ácidos biliares. Se encuentra en los tejidos como colesterol libre o como ésteres de colesterol. El colesterol endógeno y el de la dieta se transportan en la circulación como lipoproteínas (Voet y Voet, 2004).

La homeostasis del colesterol se logra equilibrando la síntesis endógena, la absorción intestinal y la secreción de ácidos biliares y colesterol. Dado que los ácidos biliares son reabsorbidos eficientemente y una parte del colesterol biliar es reabsorbido en el intestino, el balance global del colesterol depende de que las entradas (síntesis y dieta) se equilibren con las pérdidas (excreción fecal) (Figura 1). El colesterol excretado en las heces depende de la eficiencia de la absorción intestinal del colesterol biliar y dietético. Por eso, la regulación de la absorción intestinal del colesterol es de gran interés como diana terapéutica para reducir las cifras de colesterol (Schaefer, 2002; Cofan Pujal, 2014).



**Fig. 1. Homeostasis global del colesterol en el organismo.** HDL, lipoproteínas de alta densidad; LDL, lipoproteínas de baja densidad; QM, quilomicrones; RLDL, receptor para LDL; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad. (Tomada de Cofan-Pujol, 2014).

Todas las células del organismo tienen la capacidad de sintetizar colesterol, pero en las células hepáticas se lleva a cabo la mayor producción de éste. Existen tres vías para obtener colesterol (Fig. 1): a) entrada del colesterol de la dieta a través de los remanentes de quilomicrones; b) captación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) que contienen colesterol circulante y de tejidos extrahepáticos mediante los receptores de LDL (rLDL), pero también la captación del colesterol en forma de HDL (lipoproteínas de alta densidad) y de remanentes de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad por receptores específicos), y 3) síntesis del esteroide a partir de la acetil-CoA bajo el control de la enzima limitante 3-hidroximetil-glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa a través de una vía metabólica compleja (vía inhibida por las estatinas). La enzima HMG-CoA reductasa es la enzima limitante en la síntesis de colesterol. La síntesis del colesterol está estrechamente modulada por proteínas que se unen a elementos reguladores de esteroides (SREBP), principalmente las de tipo 2. Cuando el colesterol celular es alto, SREBP2 se encuentra en el retículo endoplasmático formando complejo con la proteína activadora a través del rompimiento de *SREBP2* (SCAP). Cuando las células agotan los esteroides, SCAP acompaña a SREBP2 desde el retículo endoplasmático al aparato de Golgi, donde se escinde con el fin de liberar parte de la proteína desde la membrana. SREBP2 puede entrar en el núcleo y unirse al *Elemento de Respuesta al Esteroide* (SRE) en la región promotora de muchos genes implicados en la síntesis de colesterol, activando su transcripción. Prácticamente todas las células de mamíferos sintetizan colesterol. En humanos, la síntesis en el hígado contribuye en un 10% (1 mg/kg/día) a la síntesis total de colesterol (10 mg/kg/día) (Cofan-Pujol, 2014; Ramasamy, 2014).

Las tasas específicas de síntesis de colesterol, tanto el total corporal como en los órganos, varía en función de la presencia de colesterol y otros lípidos de la dieta. En los humanos se presenta un ritmo circadiano de síntesis de colesterol, con un pico tras varias horas después de la ingesta de los alimentos, el cual viene regulado por diferentes mecanismos moleculares que modulan la expresión de genes implicados en la síntesis del colesterol (Cofan-Pujol, 2014; Ferrell y Chiang, 2015).

La absorción de colesterol es un proceso complejo, debido a la insolubilidad y a la hidrofobicidad de esta molécula, requiere de varios pasos: emulsificación, hidrólisis del enlace éster (cuando está esterificado) por una hidrolasa pancreática específica, solubilización micelar, absorción en el yeyuno proximal, reesterificación en el citoplasma de los enterocitos y transporte a la linfa en quilomicrones. Aparte del colesterol de los alimentos (unos 300-500 mg diarios en una dieta occidental), el colesterol intestinal también procede de 2 fuentes

endógenas: la bilis, que contribuye con unos 800-1,100 mg por día, y la descamación del epitelio intestinal, que aporta una parte muy pequeña (5 al 9 % del total) (Figura 1) (Cofan-Pujol, 2014).

En promedio se absorbe sólo el 40% de colesterol, y esto varía entre el 30 y el 80%. El colesterol absorbido tiene como destino final el hígado, que es el principal órgano responsable de la producción y reducción de las LDL (lipoproteínas de baja densidad), por lo que cualquier variación en la eficiencia de la absorción intestinal de este esteroide influye en las concentraciones séricas del colesterol LDL (cLDL) (revisado por Ramasamy, 2014).

En humanos existe una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de cLDL y la eficiencia de la absorción intestinal de colesterol. Sin embargo, las variaciones del colesterol de la dieta a menudo no están asociadas con cambios en las concentraciones circulantes de LDL y, por lo cual, se han estudiado otros factores que influyen en la absorción de colesterol. Estos factores son dietéticos, biliares, lumbinales, celulares, genéticos o farmacológicos (Guyton y Hall, 2001).

El colesterol puede ser excretado en las heces bajo 2 formas: a) como esteroides neutros (colesterol y sus metabolitos intestinales resultado de la degradación bacteriana) y b) en forma de sales biliares. El transporte reverso de colesterol consiste en el flujo de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado mediado principalmente por lipoproteínas HDL y su posterior secreción a la bilis, que es transportada a la luz intestinal, dando lugar a la excreción fecal de colesterol. Durante décadas se ha considerado el transporte reverso de colesterol como la principal vía de eliminación del colesterol. Sin embargo, la vía de excreción transintestinal de colesterol (TICE) contribuye de forma significativa a la eliminación fecal de esteroides neutros. Recientes estudios han demostrado que la parte proximal del intestino delgado es capaz de secretar colesterol activamente, constituyendo una vía de eflujo de colesterol denominada transintestinal (TICE), la cual en humanos representa un tercio de la excreción fecal de esteroides neutros. Se desconocen las proteínas involucradas en el transporte del colesterol desde el torrente sanguíneo al enterocito y su posterior excreción intestinal (Cofan-Pujol, 2014; Ferrebee y Dawson, 2015).

Los valores de colesterol en sangre se determinan como colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL. El Programa Nacional para la Educación en Colesterol (NCEP) en su reporte sobre evaluación de niveles altos de colesterol en el adulto (panel de tratamiento del adulto, ATP III) publicó los valores de colesterol en sangre (NCEP, 2002). Los valores de colesterol se presentan en la Tabla 1. Más de 240 mg/dL de colesterol total significa que la persona estaría

en riesgo alto de desarrollar enfermedades cardiacas tales como la aterosclerosis, los infartos y la trombosis (Murray, Bender, Botham, Kennelly, Rodwell y Weil, 2009). Además, al colesterol LDL que normalmente corresponde al 60-70 por ciento del colesterol sérico total se le ha considerado como la principal lipoproteína aterogénica. Valores superiores de 100 mg/dL de colesterol LDL podrían ser aterogénicos (revisado por NCEP, 2002).

**Tabla 1. Valores y clasificación de colesterol, total, LDL y HDL en sangre (mg/dL).**

	Deseable u óptima	Arriba de la optima	Límite alto	Alta	Muy alta
Colesterol Total	< 200		200-239	≥ 240	
Colesterol LDL	< 100	100-129	130-159	160-189	≥190
Colesterol HDL	< 40			≥ 60	

(Tomado de NCEP, 2002)

El colesterol es un lípido que se encuentra solamente en alimentos de origen animal, como lácteos, carne, vísceras, embutidos, manteca de cerdo y yema de huevo. Por ejemplo, de las vísceras, los sesos contienen mayores niveles de colesterol (2200 mg/ 100g). Los mariscos también contienen cantidades importantes de colesterol, en especial, los camarones (150 g/100 g). Las carnes y quesos grasos contienen cantidades apreciables de colesterol, lo que unido a la grasa saturada justifica su limitación en su consumo. La mantequilla contiene alto nivel de colesterol, así como la yema de huevo (revisado por Mataix y Vidal Canou, (2009). Cabe señalar que ninguno de los productos vegetales contiene colesterol.

### **I.2.2. Queso**

El queso es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada de vaca, cabra y oveja principalmente. Hay centenares de variedades de quesos. Sus diferentes estilos y sabores son el resultado del uso de leches de diferentes especies de mamíferos y de distintas especies de bacterias y mohos, diferentes niveles de nata en la leche, variaciones en el tiempo de maduración, diversos tratamientos en su proceso, etc. Se estima que en el mundo hay más de 2.000 tipos de queso y que hay tantas variedades como métodos de elaboración y de conservación (Hervás-Serra, 2012). En México, existe una gran variedad de quesos con

características muy propias y si aunque tienen antecedentes europeos, poseen un carácter propio que encaja perfectamente con la cultura alimentaria y el sabor mexicano.

Las diferentes variedades de quesos poseen distinto valor nutritivo, apariencia, sabor, textura y propiedades del procesado, por lo que el queso como producto satisface diversos rangos sensoriales y demanda nutricional en el consumidor.

Por otra parte, el queso es una forma de conservación de las sustancias insolubles presentes de la leche: caseína, materia grasa, sales insolubles, partículas coloidales y parte de la humedad. Además, es un alimento altamente nutritivo porque contiene proteínas de alto valor biológico y el complejo fósforo-calcio-vitamina D. En general, es un producto muy aceptado por el consumidor y con una digestión fácil (Galicia-Garnica, 2005). Los detalles del procesamiento, características iniciales de la leche, cortado, agitado, calentado, drenado del suero, prensado y madurado cambian en cada una de las variedades para producir las características de sabor, cuerpo y textura para cada tipo de queso (Galicia-Garnica, 2005).

En México, el consumo de queso es elevado, promovido, en parte, por el gran número de variedades de queso autóctonas (aproximadamente 20), como son el Panela, Añejo, Oaxaca, Cotija, Asadero, Chihuahua, Sierra y el Adobera entre otros, y por el uso masivo de este producto en la mayoría de los platillos mexicanos más típicos (quesadillas, sopas, tostadas y enchiladas) (Galicia-Garnica, 2005; Cervantes-Escoto, Villegas de Gante, Cesín-Vargas y Espinoza-Ortega, 2008).

En México, la producción de quesos se encuentra regulada por la Secretaría de Salud, Institución responsable de la calidad sanitaria de los productos alimenticios elaborados en el país o importados, mediante la Norma Oficial Mexicana “*NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba*”. Esta norma define al queso, como “un producto elaborado con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin crema, obtenido por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos ofrecidos al consumidor como un producto fresco, madurado o procesado” (Secretaría de Salud, 2010).

Una forma de clasificar al queso en tipos y variedades se muestra en la Tabla 2, la cual está basada en propiedades de textura y del tipo de maduración. Existen quesos duros,

semiduros y blandos, dependiendo del contenido de humedad y que se pueden madurar mediante bacterias o mohos e incluso en otros casos no se maduran (Galicia-Garnica, 2005).

**Tabla.2. Clasificación de Quesos según su consistencia.**

Blandos	Sin Madurar	Poca Grasa	Requesón, queso fresco, queso panadero
		Mucha grasa	Queso Oaxaca, Queso asadero, protegidos Queso crema, Neutchantel (U.S.)
	Madurados	Bel paese, Brie, Camembert, queso cocido, queso de mano, Neutchantel (Francia)	
Semiblandos	Madurados principalmente por bacterias		Brick, Muster
	Madurados por bacterias y microorganismos en la superficie		Limburger, Portsalut, Trapista
	Madurados principalmente por mohos en el interior		Roquefort, Azul, Gorgonzola, Stilton, Wensleydale
Duros	Madurados por bacterias (sin hoyos)		Cheddar, Granular, Caciocavallo, Chihuahua
	Madurados por bacterias (con hoyos)		Emmental, Gruyere
Muy duros	Madurados por bacterias		Aciago viejo, Parmesano, Romano, Sapsago, Spalen
Quesos procesados	Pasteurizado, empacado en frío, productos análogos		
Quesos de suero	Mysost, Primost, Ricotta		

(Tomado y modificado de Galicia-Garnica, 2005)



Hay dos tipos de quesos: a) *Quesos naturales*, de éstos hay muchas variedades en las diferentes regiones del mundo, aunque se pueden clasificarse en siete categorías básicas según su textura o grado de humedad y el tipo de corteza, criterios ambos que se emplean para juzgarlos y determinar sus características básicas; b) *Quesos procesados*, éstos son producidos a partir de uno o más tipos de quesos naturales, añadiendo emulsionantes, agua, nata y aromas de jamón, frutas, nueces o especias. Se conservan más tiempo que los quesos naturales y su valor nutritivo es similar a éstos, no obstante, se pierde el carácter único del queso original (Bello, Lizeldi, González, Manzo, Nochebuena, Quiñones-Ramírez y Vázquez-Salinas, 2004).

### **I.2.3. Nutrientes de los quesos**

El queso es un alimento de alto valor nutritivo y gastronómico, fácil de incluir en la alimentación. El contenido de nutrientes es muy variable y es inversamente proporcional al contenido de humedad del queso (que varía de 40 a 80%).

Los lípidos en el queso están en forma de triglicéridos, pero 5 g/Kg están como ácidos grasos libres. Estos últimos son fundamentales para contribuir al aroma y al sabor del queso. Este alimento también aporta unos diferentes concentraciones de colesterol total, dependiendo del tipo de queso.

En cuanto a las proteínas, el queso es una buena fuente de proteínas útiles para el organismo, las necesidades de un cuerpo adulto son de 1 g proteína/Kg de peso corporal. El valor biológico de las proteínas del queso es algo menor que el de la leche entera, ya que parte de las proteínas de la leche se eliminan al separar el suero; pero la caseína que se precipita y queda contiene entre un 91 y un 97 del valor biológico de los aminoácidos esenciales de la leche, que teóricamente es de 100.

La lactosa es el azúcar mayoritario en los quesos, pero sobretudo en los quesos frescos, que mantienen una gran cantidad del suero, mientras que en los quesos maduros es casi inexistente ya que pierden el suero. El contenido de lactosa disminuye por su conversión en ácido láctico y lactatos por los microorganismos, durante el proceso de elaboración.

En la Tabla 3 se puede observar la cantidad de macronutrientes presentes en diferentes quesos.

También, el queso es una fuente importante de micronutrientes; éstos aparecen concentrados en el alimento, debido a la pérdida de agua que se produce durante el proceso

de desuerado y durante la maduración. Un consumo de 120 g de queso aportan una cantidad lo suficientemente grande como para cubrir por completo las necesidades diarias del calcio (800 mg), ya sea libre o ligado, y el fósforo cubriendo más del 50% de las necesidades diarias de éste (USDA, 2015).

Por otro lado, la concentración de sal común en el queso, al menos en los de pasta cerrada o prensada suele ser alrededor del 2% (Bello et al., 2004).

En cuanto al contenido en vitaminas, éstas dependerán de la leche utilizada. Los quesos son más ricos en las vitaminas liposolubles que en las hidrosolubles. Por otra parte, cuanto mayor es el contenido graso de un queso mayor es su riqueza en vitamina A y D. Sin embargo, hay una cierta pérdida de la cantidad de vitamina A. Las vitaminas hidrosolubles disminuyen con respecto a la leche. En las vitaminas B su contenido final mejora por su producción durante la fermentación. Los quesos elaborados con mohos tienen mayor contenido en vitaminas B y se pueden comer sus cortezas, fundamentalmente por estar de algún envoltorio y contener la mayor concentración de este grupo vitamínico (González-Vivanco, 2002).

En la Tabla 3 podemos observar que los quesos con menos valor nutrimental son el queso blanco desnatado, fresco, burgos, cottage y requesón o ricota, en los cuales la cantidad de proteína varía de 12 a 15, la grasa total de 1.4 a 15 y el colesterol de 5 a 33 mg/100 de queso. Por otra parte, los quesos Añejo, Cheddar, Roquefort, Emmental, Gouda, Manchego y Chihuahua presentan un contenido de grasa igual o mayor a 30 mg/100 g de queso. Con lo respecta al contenido de colesterol, los quesos Añejo, Brie, Emmental, Oaxaca y Chihuahua incluyen valores igual o mayor de 100 mg/100g de queso.

En México, los quesos más consumidos tienen un sabor suave, y suelen ser de textura blanda y cremosa, y generalmente se consumen fundidos o gratinados. En la Tabla 4 se muestra el porcentaje de venta por tipo de queso como se puede observar el consumo de queso panela representa la mitad respecto a la suma del resto de tipos de queso, seguido por el Oaxaca, lo cual indica la clara tendencia de los mexicanos al consumo de queso fresco, los quesos semi-madurados como lo son el Chihuahua y el Manchego, ocupan el tercer y cuarto lugar de consumo, respectivamente (Galván-Díaz, 2005).

**Tabla 3. Comparación de cantidad de nutrientes de diferentes quesos por cada 100 gramos.**

Tipos de queso	Energía (Kcal)	Proteínas (g)	Grasa total (g)	Grasa saturada (g)	Grasa mono-insaturada (g)	Grasa poli-insaturada (g)	Colesterol (mg)	Carbohidratos (g)
Blanco desnatado	78	13.3	1.4	0.9	0.4	Trazas	5	3.3
Anejo	373	21.4	30.0	19.0	8.5	0.9	105	4.63
Azul	353	21.4	28.14	18.7	7.8	0.8	75	0.5
Bola	350	29	25	14.8	7.2	0.6	85	2
Brie	334	20.75	27.68	17.5	8	0.8	100	trazas
Burgos	203	15	15	8.8	4.3	0.9	14.5	2.5
Camembert	300	25.18	29.2	15.3	7	0.7	72	0.4
Cheddar	404	22.87	33.31	18.8	9.2	1.4	99	trazas
Cottage	103	12.5	4.5	2.85	1.28	0.14	15	2.7
Emmental	380	28	30	18.4	9.2	1.3	100	0.2
Fresco	145	12.0	8.33	5.2	2.4	0.27	33	0.33
Gallego	350	23	28	15	8	0.7	85	2
Gouda	35	24.9	27.4	17.6	7.6	0.66	114	2.22
Manchego curado	467	36	36	19	8.4	6.2	74.4	0.5
Manchego semicurado	392	29	30	19	9	0.7	87	0.5
Panela	216	17.5	20	3.5	SD*	SD*	9.3	2
Parmesano	420	28.4	27.84	15.4	7.1	1.39	86	trazas
Roquefort	369	21.54	32.64	19.3	8.5	1.32	90	trazas
Requesón (ricota)	97	13.6	4	2.5	1	0.1	19	1.8
<b>Oaxaca</b>	<b>356</b>	<b>23</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>8</b>	<b>0.8</b>	<b>105</b>	<b>2.9</b>
Chihuahua	375	22	30	19	8	0.9	105	6

\* SD: Sin Datos

(Tomado y modificado de USDA, 2015).

**Tabla 4. Tipos de quesos que se consumen en México**

Tipo de queso	Porcentaje (%)
Panela	52.3
Oaxaca	17.4
Chihuahua	11.5
Manchego	7.3
Cottage	4.6
Fundido tipo Americano	4.2
Crema	2.8
	100.0

(Tomado de Galván-Díaz, 2005)

El alto contenido en grasas saturadas (28-30 g/100 g) y colesterol (100 mg/100 g) y el abuso en la dieta de los quesos Oaxaca y Chihuahua los sitúa como alimentos potenciales para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, y en el caso de la población adulta, la NORMA Oficial Mexicana “NOM-043-SSA2-2012, *Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación*” se recomienda la moderación en el consumo de alimentos de origen animal por su alto contenido de colesterol y grasa saturada (Secretaría de Salud, 2013), por lo cual sería importante poder desarrollar un queso tipo Oaxaca con bajo contenido de colesterol sin detrimento en las propiedades organolépticas específicas removiendo éste de la leche antes de producir el queso.

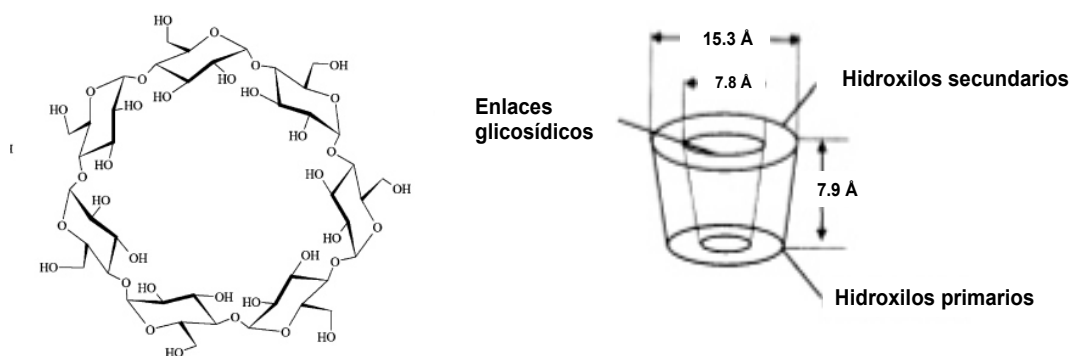
#### **I.2.4. Métodos de reducción de colesterol en productos lácteos**

Se han desarrollado diferentes métodos físicos, químicos o biológicos para reducir el contenido de colesterol de productos alimenticios. Algunos de estos métodos en productos lácteos incluyen, uso de leche descremada para reducir el contenido total de lípidos y por lo tanto también el colesterol, sustitución de la grasa de la leche por aceite vegetales, adsorción con saponina y digitonina para formar complejos con el colesterol (Micich, 1990), la degradación de colesterol por oxidantes de éste, remoción por extracción supercrítica de fluidos (Arul, Boudreau, Makhoul, Tardif, y Grenier, 1988), extracción con pectinas altamente metoxiladas (García-Rojas, dos Reis Coimbra, Minim, y Freitas, 2007) y extracción con solventes orgánicos (Larsen y Froning, 1981), entre otros. Sin embargo, muchos de estos métodos son no selectivos y junto con el colesterol, pueden ser extraídos otros componentes liposolubles, incluyendo componentes de importancia nutricional y responsables del sabor,

además las proteínas pueden desnaturalizarse, lo que genera en productos con menor aceptabilidad que el original.

### I.2.5. $\beta$ -Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas se obtienen durante la degradación enzimática del almidón y consisten en una serie de oligosacáridos cíclicos formados por 6 ( $\alpha$ ), 7 ( $\beta$ ) u 8 ( $\gamma$ ) unidades de  $\alpha$ -D-[1,4] glucosa, que dan lugar a una estructura molecular toroidal, rígida y con una cavidad interior de volumen específico. Los grupos hidroxilo primarios en posición 6 están localizados en el lado más estrecho del toroide, mientras que los grupos hidroxilo secundarios se ubican en el lado más ancho del mismo (Figura 2). Como consecuencia, los grupos hidroxilo libres están situados en el exterior de la superficie de los anillos, las ciclodextrinas son hidrófilas y solubles en agua y su solubilidad es el resultado de la capacidad de interacción de dichos grupos hidroxilo con el medio acuoso, siendo mayor para la  $\gamma$ -ciclodextrina y la  $\alpha$ -ciclodextrina. Las ciclodextrinas son igualmente solubles en disolventes apróticos fuertemente polares, como el dimetilsulfóxido y la dimetilformamida. Las ciclodextrinas son estables en disoluciones neutras y básicas, pero se degradan lentamente en pH ácido. En estado sólido se descomponen por encima de 200°C (Martínez y Gómez, 2007; Kurkov y Loftsson, 2013).



**Fig. 2.  $\beta$ -Ciclodextrinas** (Tomado de Martínez y Gómez, 2007).

Un aspecto importante en la naturaleza sacárida de las ciclodextrinas es la no toxicidad hacia los humanos (Szejtli, 1998). En el EE.UU., las ciclodextrinas se encuentran en la lista GRAS (lista de la FDA de los aditivos alimentarios que son "generalmente reconocido como seguros") y pueden ser comercializadas como tal. En Japón éstas son reconocidas como

productos naturales y su comercialización en el sector de la alimentación se limita únicamente por consideraciones de pureza. El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) recomienda un nivel máximo de las  $\beta$ -CDs en los alimentos es de 5 mg/kg por día. Por otra parte, en julio de 2005 la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (EPA) eliminó la necesidad de establecer un máximo admisible nivel de residuos de las ciclodextrinas en diversos productos alimenticios (US Federal Register, 2005).

Una de las aplicaciones principales de las  $\beta$ -ciclodextrinas en química y farmacología es la solubilización de esteroides ya que debido a su esqueleto cíclico hidrofóbico son altamente insolubles en agua (Wallimann, Marti, Furer y Diederich, 1997). La utilización de las  $\beta$ -CD se ha incrementado anualmente alrededor de 20 a 30%, de los cuales el 80-90% estaba en productos alimenticios. La utilización generalizada de las ciclodextrinas se refleja en productos farmacéuticos, alimentos, químicos y otras áreas industriales. En la industria farmacéutica, las ciclodextrinas y sus derivados se han utilizado en los medicamentos ya sea para formar complejos o como aditivos auxiliares tales como solubilizantes, diluyentes o ingredientes de tabletas para mejorar las propiedades físicas y químicas o para mejorar la biodisponibilidad de medicamentos poco solubles. En la industria química, las ciclodextrinas y sus derivados se utilizan como catalizadores para mejorar la selectividad de las reacciones, así como para la separación y purificación de productos a escala industrial. En la industria de alimentos, cosméticos y tabaco, las ciclodextrinas han sido ampliamente utilizadas, ya sea para la estabilización de sabores y fragancias o para la eliminación de sabores no deseados, contaminaciones microbiológicas, y otros compuestos no deseados (revisado por Astray, Gonzalez-Barreiro, Mejuto, Rial-Otero y Simal-Gándara, 2009; Sharma y Baldi, 2014).

#### **I.2.6. Uso de $\beta$ -ciclodextrinas para remoción de colesterol de productos lácteos**

Las  $\beta$ -ciclodextrinas se han utilizado para eliminar eficazmente el colesterol de los productos de origen animal para la mejora de sus características nutricionales. Estas ciclodextrinas forman complejos de inclusión con el colesterol atrapándolo en su interior. Como estas son muy poco solubles en agua (1.85 %) pueden fácilmente removerse por centrifugación a baja velocidad.

Entre los productos lácteos:

Leche. Diferentes grupos de investigación han reportado el uso de diferentes concentraciones de  $\beta$ -ciclodextrinas en leche de vaca para eliminar el colesterol de ésta. Lee et al. (1999)

utilizando diferentes concentraciones de  $\beta$ -ciclodextrina, temperaturas y tiempos de mezclado, velocidades y tiempos de centrifugación encontraron que las condiciones óptimas para remover del 92.2 al 95.3% de colesterol de la leche vacuna fue la adición de  $\beta$ -ciclodextrina al 1.5 %, a una temperatura de 10 °C, un tiempo de mezclado de 10 minutos y una centrifugación de 166  $\times g$  durante 10 min para la separación de complejo  $\beta$ -ciclodextrina-colesterol de la leche. Alonso et al. (2009) reportaron que la adición a la leche de  $\beta$ -ciclodextrinas al 0.6 % eliminó el 95.31 % de colesterol cuando fueron incubadas a 4 °C en 20 min, el complejo de colesterol -  $\beta$ -ciclodextrina se logró retirar por centrifugación. Además, estos investigadores indicaron que la composición de ácidos grasos y triglicéridos no difirieron entre la leche de control y la leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrina al 0.6 %. Por otro lado, se han utilizado  $\beta$ -ciclodextrinas entrecruzadas con diferentes moléculas, como por ejemplo, con epiclorhidrina (Kim, Ahn y Kwak, 2004) donde se logró obtener una tasa de eliminación del colesterol de aproximadamente del 80 % cuando se incubó la mezcla leche -  $\beta$ -ciclodextrinas entrecruzadas por 10 min y con 400 rpm de velocidad y a una temperatura de 5 °C. Además, se obtuvo un 100 % de eficiencia en el reciclado de la  $\beta$ -ciclodextrina entrecruzada después de 8 ciclos.

Lee, Ganesan, y Kwak (2012) entrecruzaron  $\beta$ -ciclodextrinas con ácido adípico y encontraron una remoción de aproximadamente un 90 % de colesterol de la leche de vaca, aun después de 8 ciclos de reutilización de estas  $\beta$ -ciclodextrinas entrecruzadas. Por otra parte, Kwak, Kim, Kim, Choi y Kang (2004) utilizaron  $\beta$ -ciclodextrinas inmovilizadas en perlas de vidrio logrando una remoción de un 41% de colesterol de la leche y una eficiencia de reciclaje de estas  $\beta$ -ciclodextrinas de casi el 100%. Adicionalmente, se han inmovilizado  $\beta$ -ciclodextrinas en portaobjetos de vidrio obteniéndose una remoción de colesterol de la leche de 68 -74% y una eficiencia de la remoción después de ocho ciclos de casi un 100 % (Tahir, Kwon, Jeong, Cho, Palk y Jung, 2013; Tahir y Lee, 2013).

**Mantequilla.** Se utilizó  $\beta$ -ciclodextrina al 10% y se obtuvo una eliminación del colesterol de 91.2 - 93.0 % con cuando la crema se incubó con 10 % de  $\beta$ -ciclodextrinas, con una agitación rotaria de 400 rpm a 5°C for 10 min. Luego se centrifugó a 166 $\times g$  para la remoción de  $\beta$ -ciclodextrinas (Jung, Kim, Yu, Ahn, y Kwak, 2005). Además, cuando se utilizó  $\beta$ -ciclodextrina entrecruzada con ácido adípico se removió aproximadamente el 90% de colesterol de la mantequilla (Kim, Jung, Ahn, y Kwak, 2006).

**Queso.** Se han utilizado diferentes concentraciones de  $\beta$ -ciclodextrina tanto en la leche total como en la crema de la leche y se ha logrado remover del 40 al 95 % del colesterol. Kwak, Nam y Ahn (2001) reportaron como condiciones óptimas en la producción de queso Mozzarella reducido en colesterol la adición a la leche de  $\beta$ -ciclodextrinas al 1 %. Bajo estas condiciones se logró remover un 64 % de colesterol del queso. Sin embargo, éste mostró una disminución en la estrechabilidad y textura comparado con el queso control. Otros resultados han indicado que cuando se preparó queso Cheddar a partir de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas, éste mostró una reducción efectiva del colesterol en un 80 %, sin pérdida de su sabor y una maduración más rápida (Kwak, Jung, Shim y Ahn, 2002; Kwak, Jung, Seok y Ahn, 2003; Seon, Ahn y Kwak, 2009). También se han utilizado las  $\beta$ -ciclodextrinas para la producción de quesos con bajo contenido en colesterol (menos del 90 %), tipo Camembert (Bae, Kim, y Kwak, 2008), queso crema (Kim, Han, Ahn y Kwak, 2005; Han, Kim, Ahn y Kwak, 2008) y queso azul (Kim, Bae y Kwak, 2008). Sin embargo, esta metodología no se ha utilizado para la elaboración de quesos en México.

**Crema.** Se ha demostrado un rango de eliminación del colesterol de 91.2 - 93.0 % de la crema cuando se utilizaron  $\beta$ -ciclodextrinas a diferentes concentraciones. Estos estudios se llevaron a cabo para examinar los cambios en las propiedades funcionales por la remoción del colesterol de la crema de leche por  $\beta$ -ciclodextrina, donde se encontró que el proceso del tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrina en sí, causó un incremento de floculación en la grasa de la crema, lo que resultó en menos tiempo de batido necesario de la crema de leche favoreciendo y eficientizando el proceso (Shim, Ahn y Kwak, 2003; Han, Kim, Ahn y Kwak, 2007; Ha, Ahn, Min y Kwak, 2009). Además, se encontró que el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas para la remoción del colesterol de la crema no alteró ninguna de las propiedades nutricionales de los productos finales (Ha, Lee, Chang y Kwak, 2010).

#### **1.2.7. Análisis Sensorial**

El análisis sensorial es una disciplina científica en la que se utilizan panelistas para medir, analizar, e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos (vista, gusto, olfato, oído y tacto) de las personas hacia ciertas características de un alimento, como son su sabor, olor, color y textura, por lo que la sensación compleja que resulta de la interpretación de estas



características con los sentidos es usada para medir la calidad de los alimentos (Stone, 1985; Bourne, 2002). No existe ningún otro instrumento que pueda reproducir o reemplazar la respuesta humana; por lo tanto, la evaluación sensorial es un factor esencial y necesario en cualquier estudio sobre alimentos, en especial en desarrollos como el aquí presentado cuando se busca reducir un elemento sin cambio en la calidad organoléptica.

### **1.2.8. Tipos de Pruebas Sensoriales**

Las pruebas sensoriales se han efectuado desde hace mucho tiempo, desde que el hombre las aplicó para evaluar lo bueno y lo malo de los alimentos (Meilgaard, Carr, y Civille, 1991.) El análisis sensorial se lleva a cabo con diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe, pruebas discriminativas, pruebas descriptivas y pruebas afectivas (Anzaldúa-Morales, 2005).

**Pruebas discriminativas.** Son aquéllas en las que no se requiere conocer la sensación subjetiva que produce un alimento en una persona, sino que se desea establecer si hay diferencia o no entre dos o más muestras y, en algunos casos, la magnitud o importancia de esa diferencia (Carpenter, David y Terry, 2000). Anzaldúa-Morales (1994) indica que en este tipo de pruebas pueden usarse jueces semientrenados y las pruebas más comunes son: pruebas triangulares, duo-trio, comparación apareada simple, comparación apareada de Scheffé, comparaciones múltiples y de ordenamiento.

**Pruebas descriptivas.** En estas pruebas se trata de definir las propiedades sensoriales del alimento y medirlas de la manera más objetiva posible. Esto es, permiten describir, comparar y valorar las características de las muestras en función de unas categorías o tipos (patrones) definidos previamente. Aquí no son importantes las preferencias o aversiones de los jueces y no es tan importante saber si las diferencias entre las muestras son detectadas, sino cual es la magnitud o intensidad de los atributos del alimento (Anzaldúa-Morales, 2005; Carpenter et al., 2000). Las pruebas más usadas son las de perfiles sensoriales y el análisis descriptivo cuantitativo, las cuales utilizan diferentes 13 tipos de escalas, y esta última se expresa en graficas de “telaraña”.

**Pruebas afectivas.** Son aquéllas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro (Anzaldúa-Morales, 2005). Hay dos principales aspectos para las pruebas de aceptación: medición de aceptabilidad o gustosidad y comparaciones de aceptabilidad o preferencia. Las escalas de intervalo y escala de radio son escalas hedónicas especiales para medición de

gustosidad. Las estimaciones comparativas de aceptabilidad o preferencia pueden ser emprendidas usando un método pareado (preferencia) o por la prueba de calificación (Carpenter et al., 2000).

#### **1.2.9. Propiedades Sensoriales del Queso**

El queso es uno de los alimentos más consumidos en las tradiciones gastronómicas mundiales y por lo cual ha sido objeto de considerables estudios tanto técnicos como nutricionales y sensoriales. Para la evaluación de los quesos se han descrito dos guías, una patrocinada por el programa FLAIR-COST 902 en donde se hace hincapié en los aspectos de textura (Lavanchy, Berodier, Zannoni, Noel, Adamo, Squella y Herrero, 1994) y la segunda patrocinada por programa AIR-2039 y COST 95 en donde se enfoca más en los aspectos olfato-gustativos, siempre referidos a los quesos de pasta dura o semidura (Bérodier, Lavanchy, Zannoni, Casals, Herrero, Adamo, 1997). Algunos de los atributos que se utilizan en el análisis sensorial de los quesos se discuten a continuación.

**Color.** El color de los alimentos es uno de los atributos más atractivo, y hay mucho que decir de la frase “comemos con los ojos” (Potter y Hotchkiss, 1997). El color es el primer contacto que se tiene con los alimentos y posteriormente los evalúa por su textura y sabor. Esto es decisivo, ya que en un sin número de pruebas se ha comprobado que cuando cambia el color de un alimento, sin alterar su aroma, forma y sabor se produce una respuesta de rechazo por los consumidores (Badui, 1993). La leche debe su color característico al efecto de dispersión de la luz que causan los glóbulos de grasa, las micelas de caseína y los fosfatos de calcio coloidal, aunque también contribuye la presencia de caroteno y riboflavina. Cuanto más pequeños sean los glóbulos de grasa, mayor la blancura de la leche (Potter, 1986). La medición de color puede efectuarse usando escalas, abarcando todos los tonos e intensidades posibles en las muestras a evaluar, colocados en orden creciente de intensidad de color, y se asignan valores numéricos a cada punto de la escala (Anzaldúa-Morales, 2005).

**Textura.** La textura de los alimentos es uno de los atributos primarios que forman la calidad sensorial. La textura se define como un conjunto de propiedades reológicas y de estructura, geométricas y de superficie, de un producto, perceptibles por los mecareceptores, los receptores táctiles, por los visuales y los auditivos (Costel, Fiszman, y Duran, 1997). La textura es la característica de los alimentos que se relaciona con el sentido del tacto cuando tocamos

los alimentos y los receptores táctiles de la boca durante la masticación, y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación (Pérez, Bourne y Juliano, 1996). La textura está influenciada por la naturaleza de los del alimento, sin embargo, su composición química y estructura morfológica gobiernan las características de textura que se manifiestan. La textura es una característica importante en la evaluación de los alimentos y debería ser reconocido como un sabor físico (Itzutz y Wani, 1985).

La proporción de cada uno de los componentes de la leche (grasa, proteínas, agua y caseínas) influye predominantemente en la textura de los quesos, ya se ha reportado que al disminuir la cantidad de grasa en la leche para elaborar quesos, se obtienen quesos de muy pobre textura (Drake, Boylston y Swanson, 1996). Por otro lado, McEwan, Moore y Colwill (1989) observaron que los quesos reducidos en grasa son más granulosos que los quesos sin reducción de la misma. Emmons, Sutherland, y Lowrie (1980) encontraron que los quesos elaborados con leche descremada fueron más firmes y elásticos que los elaborados con leche entera.

En la boca, la textura va a evolucionar constantemente, ya que el queso se someterá a todo tipo de deformaciones y fuerzas, será mordido, masticado e ingerido. El juez evaluará ó degustará el queso: mirando, tocando, mordiendo, ejerciendo presión sobre él y masticando, reduciéndolo hasta el bolo.

**Olor.** Es la percepción, por medio del olfato, de sustancias volátiles liberadas en los alimentos. Una característica del olor es la intensidad o potencia de éste. La primera, es la persistencia, que aún de retirarse de las sustancias olorosas, la persona continúa percibiendo el olor. Esto se debe a que las fosas nasales y la mucosa que recubre el interior de estas quedan impregnadas de las sustancias volátiles (British Standard Institution, 1986).

El aroma en los quesos se debe principalmente a la oxidación de las grasas (lipólisis) o a los microorganismos contenidos en la leche con que se elaboran, si la leche es pasteurizada, los responsables son los microorganismos adicionados para el desarrollo del olor típico del queso y si la leche es cruda la responsable será la flora contenida en la leche de forma natural (Luquet, 1991).

El olor y aroma láctico es dominante o casi exclusivo en los quesos jóvenes (frescos), mientras que en los más madurados aparecen otras familias de olores, como consecuencia de una serie de mecanismos, que transforman los diferentes componentes de la cuajada

(proteínas y lípidos, principalmente) formando numerosos componentes aromáticos, cuya proporción y naturaleza dependen de la tecnología de elaboración del queso.

**Sabor.** El análisis sensorial define al sabor como la impresión combinada de una percepción vía química debido a las sensaciones provocadas por un producto en la boca (salado, dulce, amargo y ácido), además se tienen los factores de sensación química que estimulan los nervios terminales en las membranas bucales y cavidades nasales (astringencia, picoso, especies, sabor a metal, etc.) (Meilgaard et al., 1991).

Este atributo en los alimentos es muy complejo, ya que combina tres propiedades: olor, aroma y gusto. El sabor es la suma de las tres características, su medición y apreciación son más complejas que aquellas para cada propiedad por separado. El sabor es lo que diferencia a un alimento de otro y no el gusto. Por ello, cuando se realizan pruebas de evaluación del sabor, no sólo es importante que la lengua del juez sea capaz de distinguir sabores, sino que también no tenga problemas con su nariz y garganta (Anzaldúa-Morales, 2005). Una forma de evaluar el sabor es a través de pruebas descriptivas como la prueba de perfil del sabor (Meilgaard et al., 1991).

Como ya se mencionó antes, el sabor es la sensación percibida por el órgano del gusto (lengua) cuando se lo estimula con ciertas sustancias solubles. Entonces, las sensaciones gustativas nos permiten captar la cantidad de sal, dulzor, acidez y amargor del queso. Los más frecuentes en un queso son el ácido y el salado.

El queso Qaxaca o asadero es el segundo más consumido en nuestro país por sus características de hilado y sus propiedades organolépticas por lo que es necesario que estos atributos no se modifiquen ya que se originaría un rechazo del producto.

### **I.3. Justificación**

En México, la prevalencia de la hipercolesterolemia ( $> 200$  mg/dL) ha crecido de 27.1 % en 1993 a aproximadamente un 43.6 % al 2006, encontrándose en el 2014, un valor de 54.6 % en la ciudad de México. Este incremento se ha observado en todos los grupos de edad (20 a 59 años). Los niveles de colesterol sérico alto están asociados con enfermedades cardiovasculares, y uno de los tratamientos para reducir estos niveles es disminuir la ingesta de alimentos ricos en colesterol. En una ingesta calórica de 2000 a 2500 cal/día, la disminución de colesterol en la dieta de 500 a 300 mg al día (cantidad sugerida por la OMS), podría reducir el colesterol total plasmático entre 8 y 10 mg/dL. Además, en estudios epidemiológicos se ha reportado que una disminución en los niveles de colesterol de 10 mg/dL podría reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares entre un 5 – 10 %. La cantidad de colesterol sugerido para la ingesta diaria es de menos de 300 mg.

Un porcentaje alto de la población mexicana consume queso asadero (17.4 %) y/o chihuahua (11.5) %, sin embargo, cada uno de éstos contienen de 28 a 30 g de lípidos y 105 mg de colesterol/100 g. No obstante, se podría remover parcial o totalmente el colesterol de la leche antes de la producción del queso, para que éste pueda no ser excluido de la dieta de personas predispuestas a incrementar sus niveles de colesterol.

#### **I.4. Hipótesis**

El queso elaborado con bajo contenido en colesterol (menor o igual a 20 mg/50 g de producto) a partir de leche o crema de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas mantiene sus características fisicoquímicas y organolépticas como el producido sin tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas.

#### **I.5. Objetivo general**

Establecer un proceso para la elaboración de queso con bajo contenido en colesterol mediante el tratamiento de la leche y/o crema de leche con  $\beta$ -ciclodextrinas.

#### **I.6. Objetivos específicos**

1. Establecer la concentración y tiempo de interacción de  $\beta$ -ciclodextrinas con la leche y/o crema de la leche para la remoción máxima del colesterol, para su posterior uso en la elaboración de queso asadero.
2. Desarrollar un proceso para elaborar queso asadero con leche entera y leche entera tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas.
3. Comparar las características fisicoquímicas entre los quesos control y el producido con bajo contenido en colesterol.
4. Comparar las características organolépticas entre los quesos control y el reducido en colesterol por tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas.
5. Determinar la calidad microbiológica de los quesos control y el elaborado con bajo contenido en colesterol.

## **II. Material y Métodos**

### **II.1. Remoción de colesterol de la leche**

II.1.1. *Remoción de colesterol de la crema de la leche.* La crema se separó de la leche por densidad o usando un separador de crema. La crema se mezcló con diferentes concentraciones (0, 7.5, 10 y 15 %) de  $\beta$ -CD y agitó de 200 a 800 rpm a 40 ° C durante diferentes tiempos y, a continuación, se centrifugó a 166 xg durante 10 min para eliminar las  $\beta$ -CD. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado (Seon et al., 2009). Después las diferentes cremas con el colesterol removido se mezclaron con las leches descremadas y se inició la elaboración de queso.

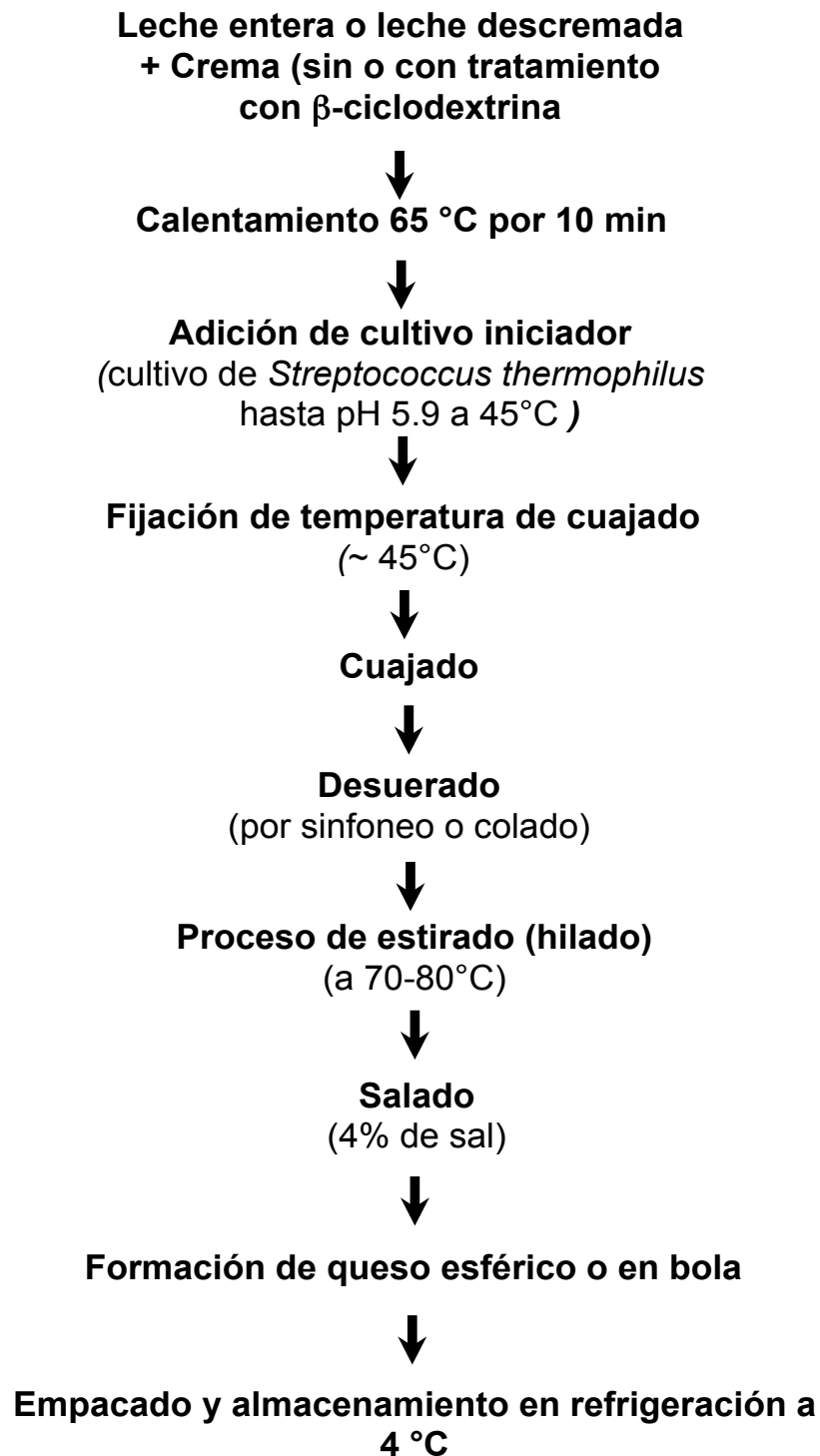
II.1.2. *Remoción de colesterol de la leche.* La Leche se mezcló con 0 y 1.0 % de  $\beta$ -CD y agitó de 200 a 800 rpm a temperatura ambiente durante diferentes tiempos, a continuación, se centrifugó a 166 xg durante 10 min para eliminar las  $\beta$ -CD (Lee et al., 1999). Después se inició la elaboración de queso.

### **II.2. Elaboración de queso**

El proceso de elaboración del queso asadero a partir de leche sin o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas se presenta en la Figura 3.

### **II.3. Contenido de humedad**

La determinación de contenido de humedad se realizó utilizando una tapa de caja de Petri, que se llevó a peso constante a 70 °C, registrándose el peso. En la caja se agregaron 5 - 10 g de la muestra de queso y se colocaron en la estufa de 12 a 16 h, una vez transcurrido este tiempo, la caja de Petri con la muestra seca se pesó y se registró el peso (AOAC, 1995). El porcentaje de humedad se obtuvo restando al peso de la muestra de queso húmeda el peso de la muestra de queso seca y dividiendo por el peso de la muestra de queso húmeda por 100.



**Fig. 3. Proceso de producción del queso** proporcionado por la Lagrange S.A. de C.V.  
(Comunicación directa).



#### **II.4. Determinación de la concentración de proteínas**

Se utilizó un método aprobado por AOAC 990.03, que se basa en el método de combustión de Dumas (AOAC, 2005). Básicamente se pesaron aproximadamente 0.2 g de las muestras secas de los quesos y se colocaron en el equipo LECO F258, utilizando EDTA como control. La determinación de cada una de las muestras se realizó por triplicado. La concentración se reporta como el porcentaje de proteínas por peso húmedo, utilizando un factor de 6.25 multiplicando por el contenido de nitrógeno de la muestra.

#### **II.5. Determinación de la concentración de lípidos**

La determinación de grasa de cada una de las muestras se realizó por el método de Goldfish, que se basa en la extracción continua por disolvente. Aproximadamente a 1 g de cada una de las muestras se le hizo pasar disolvente (éter etílico) en el aparato extractor (Goldfish) bajo reflujo constante (AOAC, 2002). La concentración de grasas se reportó como porcentaje del extracto etéreo. Para esto, el vaso del equipo se llevó a peso constante calentando en estufa a 100 °C por al menos 1 h. Después de 4 h de reflujo, el vaso conteniendo el extracto etéreo, una vez recuperado el éter se colocó en estufa a 100 °C por toda la noche. Después, el vaso se llevó a temperatura ambiente en desecador y se pesó. El porcentaje etéreo se reportó como la resta del peso del vaso después de la extracción con el peso del vaso antes de ésta entre los g del peso húmedo de la muestra.

#### **II.6. Determinación de la concentración de colesterol**

##### **II.6.1. Cremas**

Se realizó el ensayo de colesterol por el método descrito por Gilliland, Nelson y Maxwell (1985). Para ello se tomó una alícuota de 0.5 ml, se agregó 3 ml de etanol al 95%, se mezcló, se agregaron 2 ml de KOH al 50%, y se mezcló nuevamente. Se calentó a 60°C en baño maría por 15 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente (TA). Después de este tiempo se agregaron 5 ml de hexano y mezcló con vortex por 20 segundos, realizándose 5 repeticiones, se agregaron 3 ml de agua destilada y se repitió el mezclado con vortex. La mezcla se dejó reposar por 15 min a TA para permitir el separado de fases y se transfirieron 2.5 ml de la capa de hexano a un tubo limpio el cual se dejó evaporar a 60°C en el horno de convección. Después de haberse evaporado el hexano se agregaron 4 ml de reactivo de *Orto*-ftalaldehído (0.5 mg de *O*-ftalaldehído/ml de ácido acético glacial) y se dejó reposar 10

minutos a TA; con ayuda de una pipeta se agregó lentamente 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado dentro del tubo, se mezcló con vortex como se describió anteriormente y se dejó reposar a TA por de 10 - 45 minutos en la oscuridad; se tomó la densidad óptica a 550 nm. La curva de calibración se realizó siguiendo este mismo procedimiento con las siguientes concentraciones de colesterol: 0, 10, 20, 30, 40 50 µg/ml.

## **II.6.2. Quesos**

El colesterol en los quesos se determinó por dos métodos, como se describe a continuación.

a) Método de la AOAC 994.10 (AOAC, 2000a) y modificado por Dinh, Thompson, Galyean, Brooks y Boylan (2012) con algunas variaciones. Básicamente se siguió el siguiente protocolo:

### *Saponificación de las grasas de los quesos*

Se pesó aproximadamente 1 g del queso seco y pulverizado y se colocó en un matraz bola de fondo plano de 250 mL. Se le agregaron 2.0 mL de KOH a 50 % y 10 mL de EtOH al 95 %. El matraz conteniendo la mezcla y una barra magnética se acopló a un refrigerante y se colocó en una placa de calentamiento con agitador magnético. La mezcla se calentó hasta ebullición con agitación y reflujo constante por 1 h. Pasado ese tiempo, el matraz se retiró de la placa, se tapó y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

### *Extracción*

Al matraz bola conteniendo la muestra saponificada se le agregaron 10 mL de tolueno, se tapó y se agitó vigorosamente en forma horizontal con movimientos para arriba y abajo por 5-10 s. Pasado ese tiempo, toda la mezcla se transfirió a un embudo de separación. Al matraz se le agregaron 10 mL de KOH 1 N y éste se transfirió al embudo de separación conteniendo la mezcla. El embudo se tapó y se agitó vigorosamente por 10 s. Se permitió que la mezcla se separara hasta que se observara una separación clara entre ambas fases. La solución acuosa (fase inferior) se descartó. Después de este paso, se esperó por 5 – 10 s para permitir que el resto de la solución acuosa se separara y así poder descartarla. Lentamente y cuidadosamente se agregaron 5 mL de KOH 0.5 N, permitiendo que la solución de KOH resbalara por las paredes del embudo de separación para evitar la emulsificación de las grasas. El embudo se agitó suavemente y se dejó separa las dos capas. Cuando la emulsión

presentaba turbidez se le agregaron 0.2 mL de EtOH al 95 %. Una vez que ambas fases estaban claras y transparentes, se descartó la capa acuosa. La muestra se lavó cuatro veces con 5 ml de H<sub>2</sub>O destilada, descartando la fase acuosa en cada lavado. La fase de tolueno se transfirió a un tubo de ensayo conteniendo aproximadamente 3 g de sulfato de sodio anhidro y se agitó vigorosamente por 5 s. La muestra de colesterol en tolueno se almacenó a 4 °C por no más de 6 días.

Se tomó 1 mL de las soluciones de trabajo y del estándar de colesterol y se colocaron en tubos de ensayo. A cada tubo se le agregó 10 µL de  $\alpha$ -colestano 1 mg/mL (en hexano) como control interno (solución estable por 24 h).

b) Método de Adams (Adams, Sullivan, Smith, y Richter, 1986). Básicamente, se pesó aproximadamente 1 g de los diferentes quesos y se colocó en tubos con tapón de rosca. A cada tubo se le agregó 2 mL de KOH al 50 % y 3 ml de EtOH al 95 %; se realizó una curva estandar con diferentes concentraciones de colesterol (0, 100, 200, 300 y 400 µg) A cada uno de los tubos se les adicionó 500 µg de  $\alpha$ -colestano; todos los tubos se incubaron por 30 min a 60 °C en baño de agua. Los tubos se dejaron enfriar y el colesterol se extrajo con 5 mL de n-hexano por 4 veces. El hexano conteniendo colesterol y el  $\alpha$ -colestano se evaporó en un rotapor. La muestra seca se resuspendió en 1 mL de hexano y se guardó a -20 °C hasta su análisis por cromatografía de gases.

#### *Análisis por cromatografía de gases del colesterol*

Se utilizó a un cromatógrafo de gases Trace GC Ultra de Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA, USA) con una columna Agilent HP-Ultra 2 de 25 m de longitud, 0.32 mm de diámetro y 0.17 µm de film (Santa Clara, California, USA), al cual se le inyectó 1 µL del estándar de colesterol y de las diferentes muestras de los quesos elaborados sin y con  $\beta$ -ciclodextrinas, todos conteniendo  $\alpha$ -colestano como control interno. Las condiciones de operación fueron las siguientes: a) inyector a una temperatura de 250 °C, b) detector a 300 °C y c) columna a 255 °C (manteniendo a 190 °C por 2 min y luego aumentando la temperatura 20 °C por 3 min hasta alcanzar 230 °C y por último aumentar 40 °C por min hasta alcanzar 255 °C de temperatura y manteniéndola por 19 min, corrida total). Las velocidades de flujo fueron los siguientes: a) helio de 2 mL por min, el split vent, a 30 mL por min y el purgar vent,

3 mL /min. Las velocidades flujo del gas auxiliar y de make-up fue de 20 mL por min, la del hidrógeno de 35 mL/min y la del aire de 280 mL por min (AOAC, 2000a)..

## **II.7. Calidad microbiológica de quesos**

Se realizó el análisis microbiológico de los quesos producidos con o sin colesterol. Se determinó la cuenta total de bacterias, de hongos y levaduras, la presencia de coliformes y la ausencia de patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Listeria* (Secretaría de Salud, 1994a, 1994b, 1994c, 1994d, 1994e).

**II.7.1. Cultivo para bacterias coliformes.** Se investigó la presencia de *Escherichia coli*, en Placas PetrifilmMR para recuento de *E. coli*/Coliformes siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante (3M, México). (Método AOAC 991.14).

**II.7.2. *Staphylococcus aureus*.** Se investigó la presencia de *Staphylococcus aureus*, en Placas 3MTM PetrifilmTM para recuento express de Staph siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante (3M, México) (AOAC 2003).

**II.7.3. Hongos y levaduras.** La determinación de hongos y levaduras se realizó en placas PetrifilmMR YM (*Mohos/levaduras*), según las instrucciones del fabricante, distinguiendo a las levaduras como colonias típicamente azules pequeñas con bordes definidos y los hongos como colonias grandes, de colores variables, con centro oscuro y forma difusa (3M, México) (AOAC 997.02) (AOAC1997).

**II.7.4. *Salmonella*.** La determinación de *Salmonella* se realizó por el método de 3M Petrifilm *Salmonella* Express System (SALX) según las instrucciones del fabricante (3M, México) (AOAC 2014).

**II.7.5. *Listeria*.** Se analizó la presencia de *Listeria* en 25 g de las muestras de queso utilizando el método AOAC (995.22) mediante la técnica de ELISA (Pruebas 3M, Tecra, EUA) (AOAC, 2000b).

## **II.8. Propiedades Sensoriales del Queso**

Las propiedades sensoriales a comparar entre los quesos sin tratar y aquél con bajo contenido en colesterol fueron en dos pruebas, una analítica de diferenciación triangular y otra afectiva hedonista (Anzaldúa-Morales, 2005). La prueba de diferenciación triangular se realizó de la siguiente manera: se presentaron tres muestras de queso simultáneamente, dos de ellas idénticas y una diferente. El panelista señaló la muestra que consideró diferente. Además, se

realizó una prueba afectiva hedonista con la finalidad de conocer el nivel de agrado-desagrado de los quesos sin y con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas.

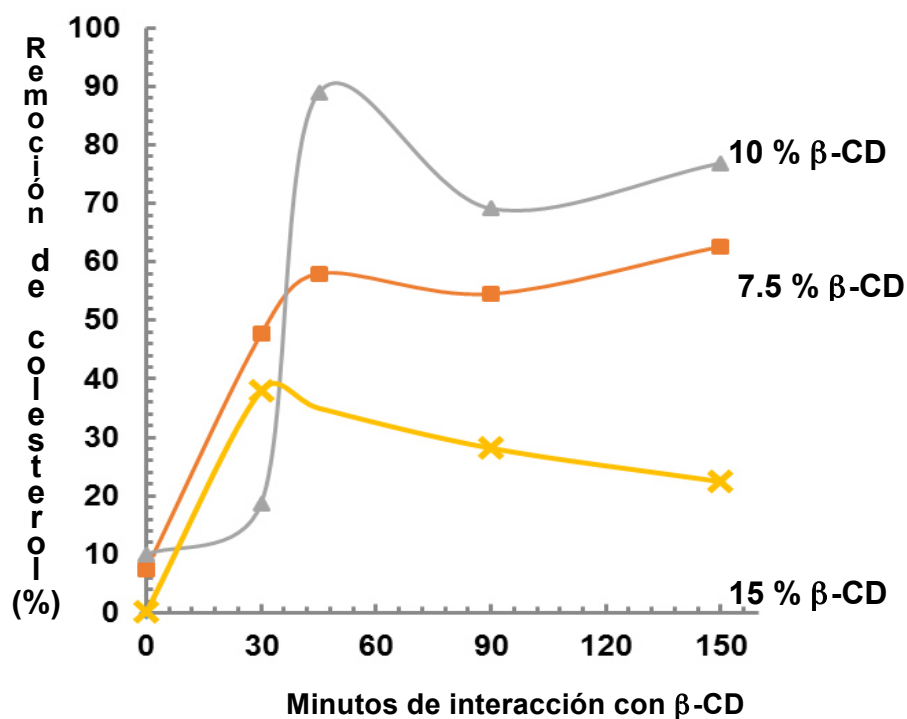
## **II.9. Análisis estadístico**

Se utilizó el análisis de chi-cuadrada en la prueba de diferenciación triangular. El análisis estadístico de *t-de student* mediante el programa SPSS 22 se utilizó para el análisis proximal, la concentración de colesterol, pruebas afectivas de agrado y satisfacción entre los quesos elaborados a partir de leche sin o con tratamiento con ciclodextrinas.

### III. RESULTADOS

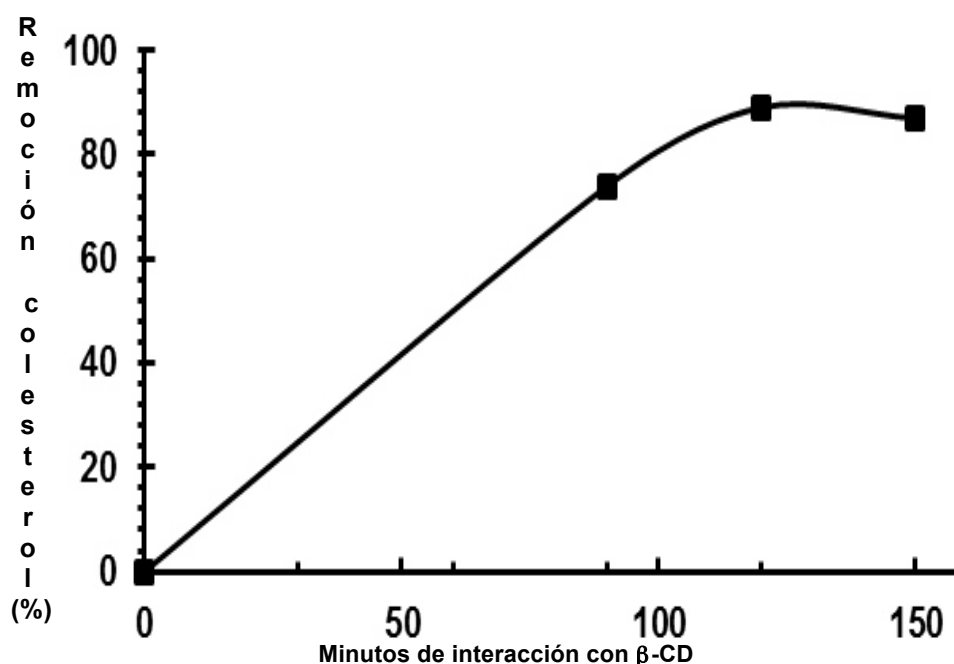
#### III.1. Remoción del colesterol de la crema

Las condiciones para la remoción de colesterol de la crema como método previo para la elaboración de queso asadero sin colesterol se establecieron utilizando el protocolo siguiente. Se utilizó crema de leche cruda, separada por densidad y se colocó en cuatro matraces Erlenmeyer conteniendo 0, 7.5, 10 y 15 %, de  $\beta$ -ciclodextrinas respectivamente a diferentes tiempos (0, 30, 60, 90 y 150 min) de interacción a 40 °C y a 250 rpm de agitación rotatoria. En la Fig. 4 se puede observar que con 10 % de  $\beta$ -ciclodextrinas y a partir de los 45 min de interacción hay una remoción de colesterol de la crema de aproximadamente 90 %.



**Fig. 4. Remoción de colesterol de la crema de leche incubada con diferentes concentraciones de ciclodextrinas y a diferentes tiempos de interacción con ésta.** La crema obtenida a partir de leche cruda con diferentes concentraciones de  $\beta$ -CD se incubó a 40 °C y a 250 rpm con agitación rotatoria. A diferentes tiempos de incubación se sacaron alícuotas y se procesaron para la determinación de colesterol como se describió en Material y Métodos.

En otro experimento, la crema se colocó en dos matraces Erlenmeyer, a cada uno de éstos se le agregó  $\beta$ -ciclodextrinas en polvo para dar una concentración final de 10 %. Los matraces se incubaron a 40 °C por diferentes tiempos (0, 90, 120 y 150 min) con 250 rpm de agitación rotatoria. Una vez transcurrido los tiempos, las muestras se centrifugaron y a los sobrenadantes se le determinó la concentración de colesterol como se describió en Material y Métodos. En la Fig. 5 se puede observar que a partir de los 120 minutos se obtiene la máxima remoción del colesterol de la crema que fue del 89 %. Por lo tanto, en los siguientes experimentos para remover el colesterol de la crema para la elaboración del queso se utilizaron 120 min de interacción con  $\beta$ -ciclodextrinas al 10 %, a 40 °C y con 250 rpm de agitación rotatoria y posterior eliminación de las  $\beta$ -ciclodextrinas por centrifugación a 166 xg por 2 min.



**Fig. 5. Remoción de colesterol de la crema de leche incubada con 10 % de  $\beta$ -ciclodextrinas a diferentes tiempos de interacción.** La crema obtenida a partir de leche cruda con 10 % de  $\beta$ -CD se incubó a 40 °C y a 250 rpm con agitación rotatoria. A diferentes tiempos de incubación se sacaron alícuotas y se procesaron para la determinación de colesterol como se describió en Material y Métodos.

### III.2. Elaboración de queso asadero

Una vez encontradas las condiciones para la remoción del colesterol de la crema de la leche se inició la elaboración del queso. Para esto, se utilizaron dos galones de leche cruda, a las cuales se les separó la crema mediante un separador manual de crema. Las cremas de cada uno de los galones de leche se colocaron en matraces Erlenmeyer de 1 L y a uno de éstos se le agregó  $\beta$ -ciclodextrinas en polvo para dar una concentración final del 10 %. Al otro matraz no se le agregó nada y se utilizó como control. Ambos matraces se incubaron a 40 °C por 120 min en incubadora con 250 rpm de agitación rotatoria. Al cabo del tiempo, las ciclodextrinas se eliminaron por centrifugación; las cremas se mezclaron con las leches descremadas respectivas y se procedió a elaborar cada uno de los quesos como se describió en Material y Métodos. En la Fig. 6 (a y b) se puede observar las fotos de un queso asadero elaborado sin tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas. No se encontró diferencia en el aspecto general de los quesos elaborados con cremas tratadas con ciclodextrinas (datos no mostrados).

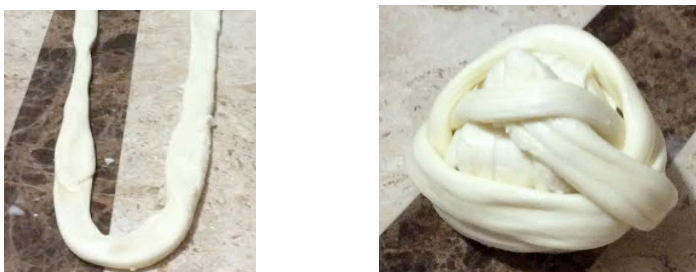


Fig. 6. Queso asadero elaborado con leche entera de vaca.

### III.3. Análisis proximal de los quesos

A los diferentes quesos asaderos elaborados con cremas tratadas o no con 10 % de ciclodextrinas se les realizó análisis proximal. En la Tabla 5 se puede observar que el tratamiento de la crema con las ciclodextrinas previas a la elaboración de los quesos no afectó significativamente (medida por *t de student*) la humedad, la concentración de lípidos ni la cantidad de las proteínas de los quesos.



**Tabla. 5. Análisis proximal de quesos elaborados con leche entera**

Características	Queso elaborado de leche entera (sin tratamiento)	Queso elaborado de leche entera (con tratamiento con $\beta$ -CD)
<b>HUMEDAD (%)</b> *	<b>48.0 <math>\pm</math> 2.6</b>	<b>46.3 <math>\pm</math> 1.6</b>
<b>LÍPIDOS (g/100 g)**</b>	<b>15.4 <math>\pm</math> 4.2</b>	<b>13.8 <math>\pm</math> 4.5</b>
<b>PROTEÍNAS (g/100g)***</b>	<b>24.9 <math>\pm</math> 2.6</b>	<b>25.1 <math>\pm</math> 3.3</b>

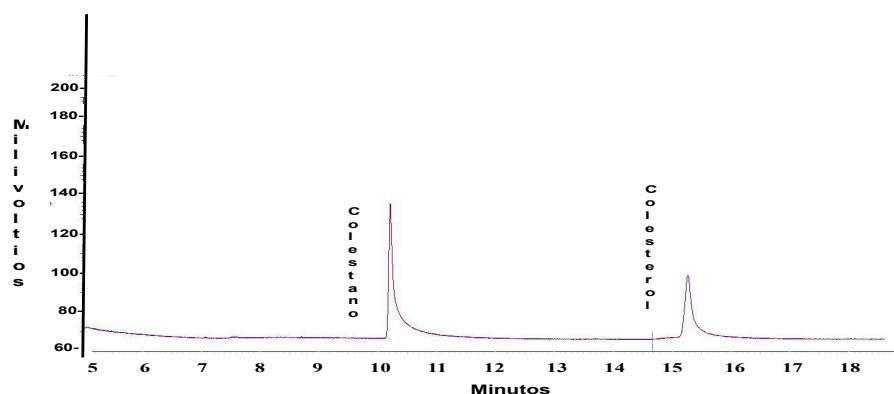
\* n= 18 y 9 muestras obtenidas sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD, respectivamente;  $p > 0.05$

\*\* n = 22 y 9 muestras obtenidas sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD, respectivamente;  $p > 0.05$

\*\*\*n = 24 y 15 muestras obtenidas sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD, respectivamente,  $p > 0.05$ .

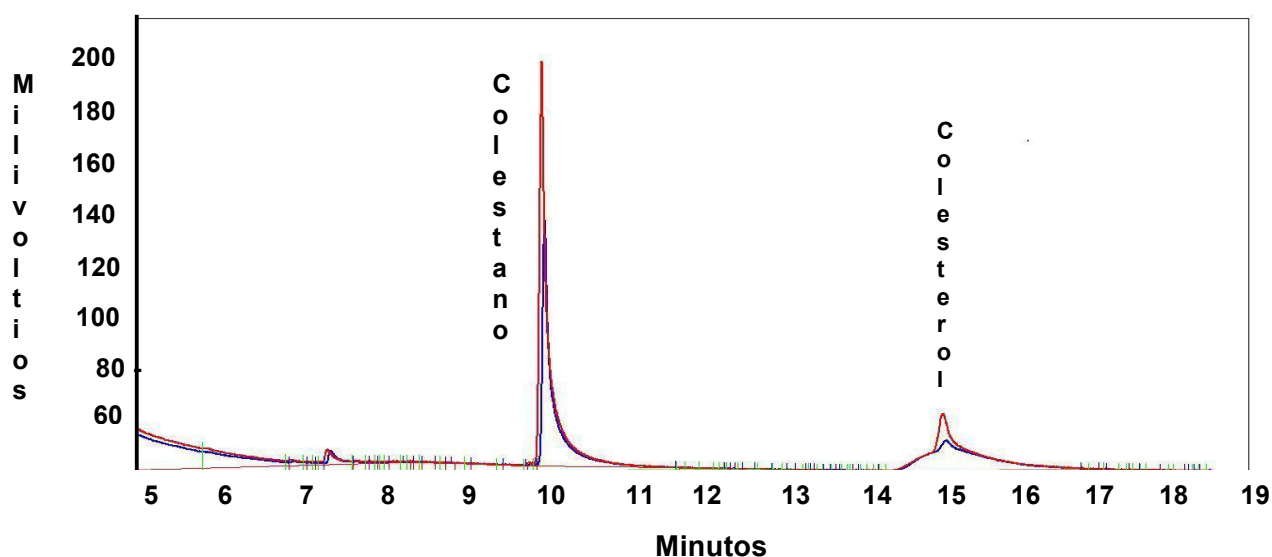
#### III.4. Concentración de colesterol en los quesos elaborados a partir de crema sin o con tratamiento con $\beta$ -ciclodextrinas

La concentración de colesterol en los quesos elaborados sin tratamiento con de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas se determinó por cromatografía de gases como se describió en Material y Métodos. Primeramente se realizó el patrón de elución del colestano (control interno) y el colesterol puros. En la Fig. 7 se muestra el patrón de elución de estos compuestos. Puede observarse que el colestano eluyó al minuto 10.2 y el colesterol al minutos 15.2. A continuación, se inyectaron diferentes cantidades de colesterol para realizar la curva estándar de éste.



**Fig. 7. Patrón de elución de los estándares de colestano y colesterol en columna Ultra 2 por cromatografía de gases.** Se inyectó 1  $\mu$ l de muestra de colesterol (300  $\mu$ g/mL) y colestano (10  $\mu$ g) disueltos en hexano en una columna Ultra 2 como se describió en Material y Métodos.

Posteriormente se inyectaron las muestras procesadas de los quesos obtenidos por el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas y de los quesos control. En la Fig. 8 se puede observar que el colesterol extraído de los quesos sin tratamiento o con bajo contenido de colesterol eluyen en el minuto 15.2 igual que el estándar de colesterol, indicando que logramos detectar éste en los quesos. Sin embargo, puede advertirse que no se percibe una diferencia significativa entre los picos observados entre los quesos control y aquél obtenido con el tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas al 10 %.



**Fig. 8. Patrón de elución por cromatografía de gases de las muestras de quesos elaborados con o sin tratamiento de la crema con ciclodextrinas.** Los quesos elaborados a partir de cremas sin o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas se procesaron para la extracción de colesterol. A las muestras se les agregaron 20  $\mu$ g de colestano y se inyectó 1  $\mu$ L en el cromatógrafo de gases y se corrió como se describió en Material y Métodos. (—, sin tratamiento; —, con  $\beta$ -CD).

El análisis de los diferentes lotes de quesos preparados a partir de leches reconstituidas con crema no tratada (Queso control) o tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas (Queso +  $\beta$ CD) se presenta en la Tabla 6, donde puede observarse que no hubo diferencia en la cantidad de colesterol entre las dos muestras. Además, se puede observar que se obtuvo una alta variabilidad en los datos de colesterol, como puede advertirse por los valores de la desviación estándar de casi el 50 %, lo que nos llevó a suponer que el método de extracción de colesterol con tolueno como está descrito en el método AOAC 994.10, y se ha utilizado en diferentes alimentos, no fue el adecuado para nuestros fines de investigación. Por lo anterior,

se decidió utilizar el método descrito por Adams (Adams y col., 1986) para la extracción del colesterol, el cual se ha reportado por diferentes autores para la separación del colesterol de los lípidos de quesos y otros productos lácteos (Kwak, Jung, Shim y Ahn, 2002; Kwak, Jung, Seok y Ahn, 2003; Seon, Ahn y Kwak, 2009). Este método se basa en la utilización del hexano para extraer el colesterol de los lípidos. Con el método se logró disminuir la variabilidad de los datos de concentración de colesterol en los diferentes lotes de quesos ensayados, sin embargo, no se encontró una diferencia significativa de la cantidad de colesterol entre el queso obtenido sin tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas y el preparado a partir de crema tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas (datos no mostrados).

**Tabla 6. Concentración de colesterol en quesos asaderos elaborados a partir de crema tratada sin o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas.**

<b>Quesos</b>	<b>mg de colesterol/100 g de queso</b>
Queso Control	85.3 $\pm$ 36.8
Queso + $\beta$ -CD	71.1 $\pm$ 35.8

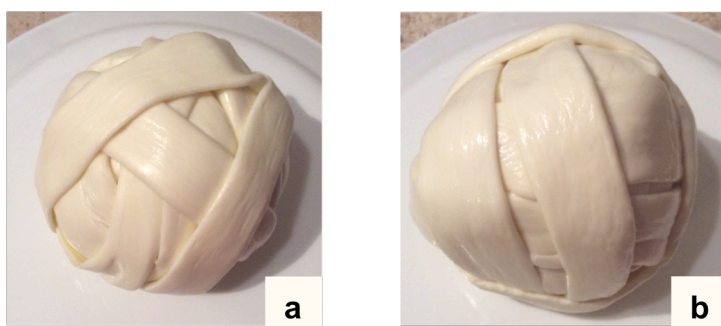
n = 15 de muestras obtenidas sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD; p >0.05.

Los datos antes descritos podrían indicar que la remoción del colesterol de la crema con las  $\beta$ -ciclodextrinas no fue satisfactorio o que con el método de separación de la crema utilizando un separador manual de crema no se logró una sustracción significativa del colesterol. Por lo tanto, una cantidad importante de colesterol se quedaría en la leche descremada, resultando como consecuencia un queso con colesterol, aún después del tratamiento de la crema separada con las ciclodextrinas.

### **III.5. Remoción del colesterol de la leche**

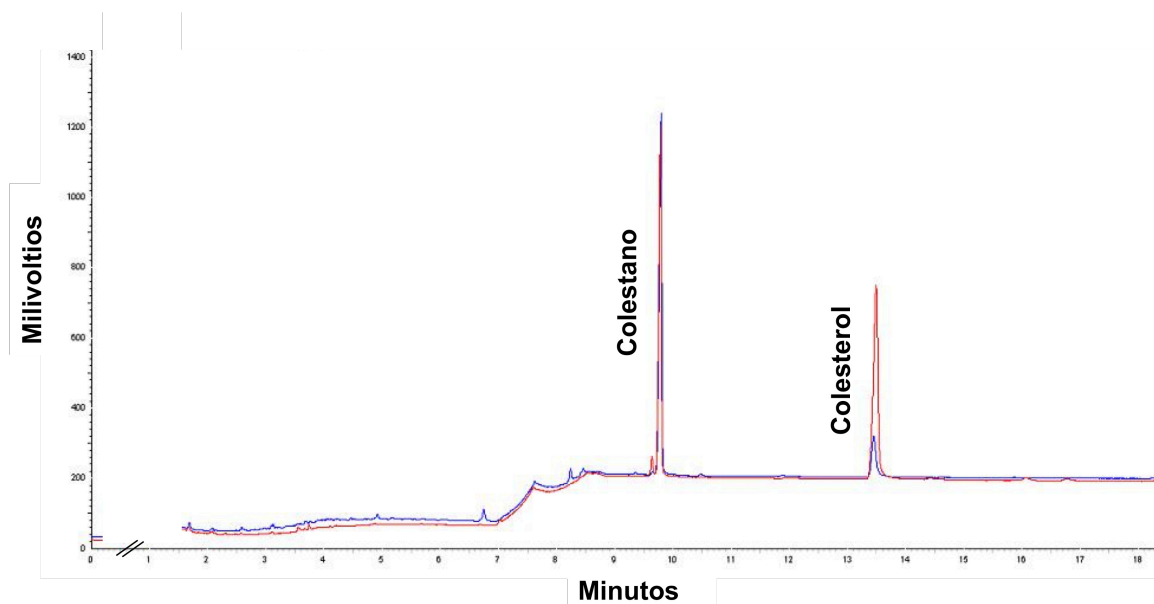
Debido a que no se logró una remoción de colesterol de la crema previa a la elaboración de los quesos se decidió utilizar la leche entera cruda como fuente para separar el colesterol de ésta mediante el tratamiento  $\beta$ -ciclodextrinas previa a la elaboración de queso como ha sido descrito por Rozycki, Colombatti, Spott, Costa, Lazzaroni y Pavón (2013). Para esto, a la leche entera se le agregó  $\beta$ -ciclodextrinas al 1 % y se dejó interaccionar a diferentes

tiempos a temperatura ambiente, resultando que después de 30 minutos se logró remover el 80 % de colesterol de la leche (datos no mostrados). Por lo tanto, para remover el colesterol de la leche entera se utilizaron  $\beta$ -ciclodextrinas al 1 % y se incrementó el tiempo a 45 minutos de interacción a temperatura ambiente. Después, las ciclodextrinas se desecharon centrifugando la leche tratada a 1000 rpm por 7 minutos. Con las leches sin y con tratamiento se elaboraron los quesos como se describió en Material y Métodos y como puede observarse en la Figura 9 (a y b), no se advierte diferencia significativa en el aspecto general de los quesos.



**Fig. 9. Quesos elaborados a partir de leche entera sin (a) o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas (b).**

Para la determinación de colesterol se utilizó el método de extracción descrito por Adams (Adams y col., 1986) y cromatografía de gases como se describió en Material y Métodos. En la Fig. 10 se puede observar que en el colesterol extraído de los quesos sin tratamiento o con bajo contenido de colesterol se percibe una diferencia significativa entre los picos observados entre los quesos control y aquél obtenido con el tratamiento de la leche entera con  $\beta$ -ciclodextrinas al 1 %. El análisis de los diferentes lotes de quesos preparados a partir de leches no tratadas (Queso control) o tratadas con  $\beta$ -ciclodextrinas (Queso +  $\beta$ CD) se presenta en la Tabla 7, donde puede observarse una remoción de aproximadamente el 47 % de colesterol en el queso preparado a partir de leche entera tratada con ciclodextrinas.



**Fig. 10. Patrón de elución por cromatografía de gases de muestras de quesos elaborados a partir de leche sin o con tratamiento con ciclodextrinas al 1 %.** Los quesos elaborados a partir de cremas sin o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas se procesaron para la extracción de colesterol. A las muestras se les agregaron 10  $\mu\text{g}$  de colestano y se inyectó 1  $\mu\text{L}$  en el cromatógrafo de gases y se corrió como se describió en Material y Métodos. (—, sin tratamiento; —, con  $\beta$ -CD).

**Tabla 7. Concentración de colesterol en quesos asaderos elaborados a partir de leche tratada sin o con tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas.**

Quesos	mg de colesterol/100 g de queso
Queso elaborado de leche entera (sin tratamiento)	55.4 $\pm$ 18.3
Queso elaborado de leche entera (con tratamiento con $\beta$ -CD)	29.1 $\pm$ 15.4

n = 4 de muestras obtenidas sin y con tratamiento con  $\beta$ -CD; p > 0.05.

En la Fig. 11 se presenta el proceso desarrollado para la elaboración de queso con bajo contenido en colesterol.

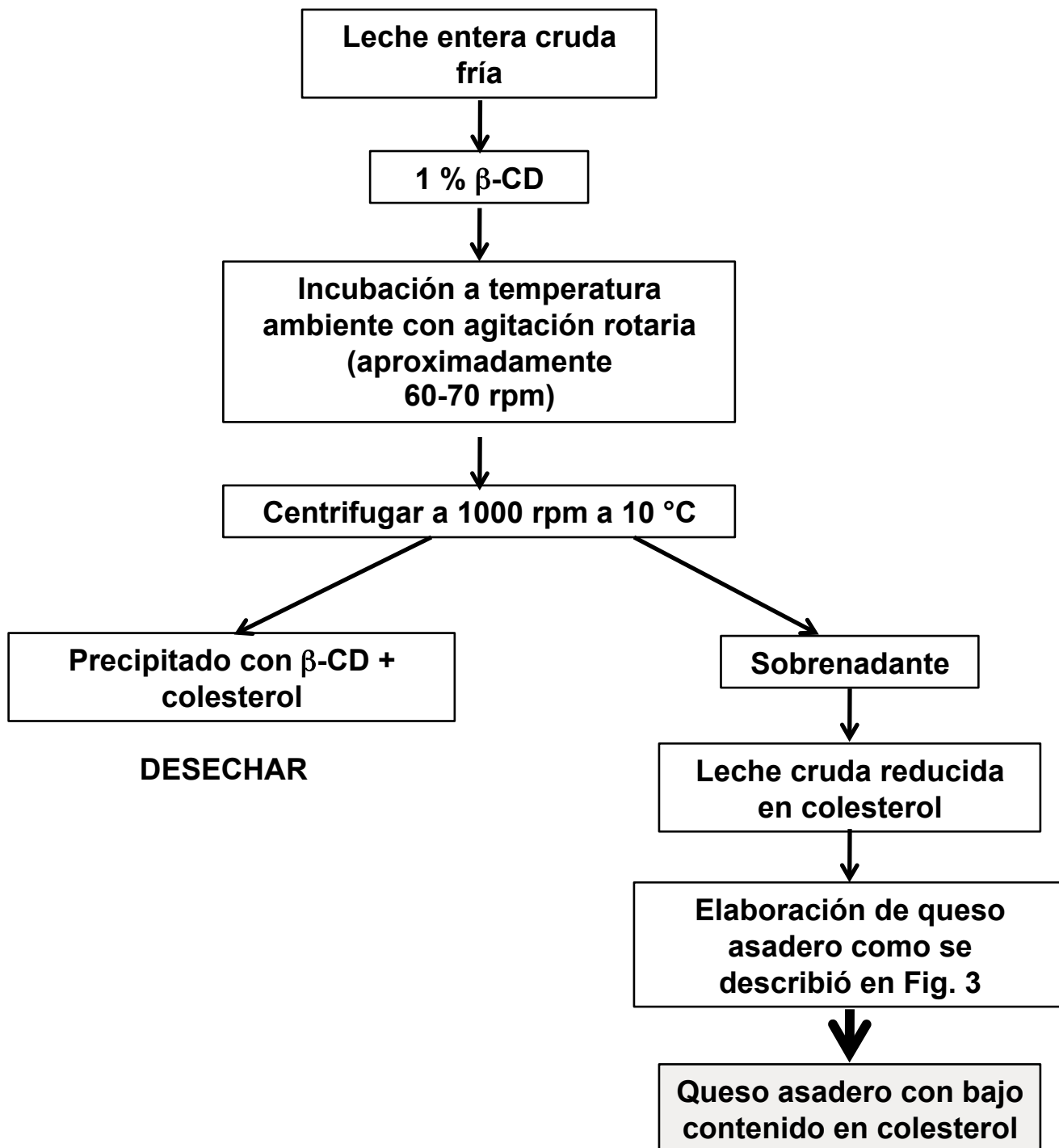


Fig. 11. Proceso desarrollado para la remoción de colesterol previo a la elaboración de queso asadero con bajo contenido en colesterol.

### III.6. Análisis microbiológico de los quesos

Se investigó la presencia de microorganismos en diferentes lotes de quesos elaborados a partir de crema o leche entera tratadas sin o con  $\beta$ -ciclodextrinas. En la Tabla 8. Puede observarse que tanto el queso control y el elaborado con tratamiento dieron un mayor número de *E. coli*/coliformes que el permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para quesos frescos. Esto debido a las condiciones ambientales de elaboración de los quesos, aunque se

**Tabla. 8. Cuenta viable de microorganismos de quesos.**

Indicadores	Límite máximo de microorganismos permitidos <sup>a</sup>	Queso elaborado de leche entera (sin tratamiento)	Queso elaborado de leche entera (con tratamiento con $\beta$ -CD)
<i>S. aureus</i>	1000 UFC/g	36	188
<i>E. coli</i> /coliformes	100 UFC/g	175	345
Hongos	500 UFC/g	Negativo	Negativo
Levaduras		Negativo	Negativo
<i>Salmonella</i>	Ausente en 25 g	Ausente	Ausente
<i>Listeria</i>	Ausente en 25 g	Ausente	Ausente

n = 6

<sup>a</sup>NOM-243-SSA1-2010; UFC: Unidades formadoras de colonias

tuvo el cuidado para evitar contaminaciones.

Sin embargo, cuando se investigó el número de *E.coli*/coliformes durante la vida de anaquel del queso, se observó que después de 30 días el número de las bacterias disminuyó a valores permitidos (ver Tabla 9).

**Tabla.9. Calidad microbiológica durante vida de anaquel.**

Indicadores	Límite máximo de microorganismos permitidos	Queso elaborado de leche entera (sin tratamiento) DÍAS (NMP/g)			Queso elaborado de leche entera (con tratamiento con $\beta$ -CD) DÍAS (NMP/g)		
		0 días	15 días	30 días	0 días	15 días	30 días
E. coli/ coliformes	100 UFC/g	25	< 10	0	765	165	45

### III.7. Análisis sensorial de los quesos

#### III.7.1. Prueba de diferenciación triangular

Se realizó una prueba de diferenciación triangular para investigar si los panelistas podrían, a partir de los atributos de sabor, aroma, color y sabor, discriminar entre los quesos control y el obtenido por el tratamiento de la leche con  $\beta$ -ciclodextrinas al 1 %. En la Tabla 10 se puede observar que el análisis de chi cuadrada arrojó que los panelistas (30 sujetos) no fueron capaces de diferenciar, con los atributos antes mencionados, los quesos. Por lo tanto, la elaboración de queso con leche tratada con ciclodextrinas con las condiciones descritas no cambia los atributos evaluados.

**Tabla 10. Valores de Chi-cuadrada para la prueba triangular de diferentes atributos de los quesos control y con  $\beta$ -ciclodextrinas.**

	Color	Aroma	Textura	Sabor
Número de Aciertos	6	12	6	15
$\chi^2$	2.38	0.61	2.38	3.77

n = 30;

Valor crítico para  $\chi^2$  para muestras con 1 grado de libertad = 3.84.

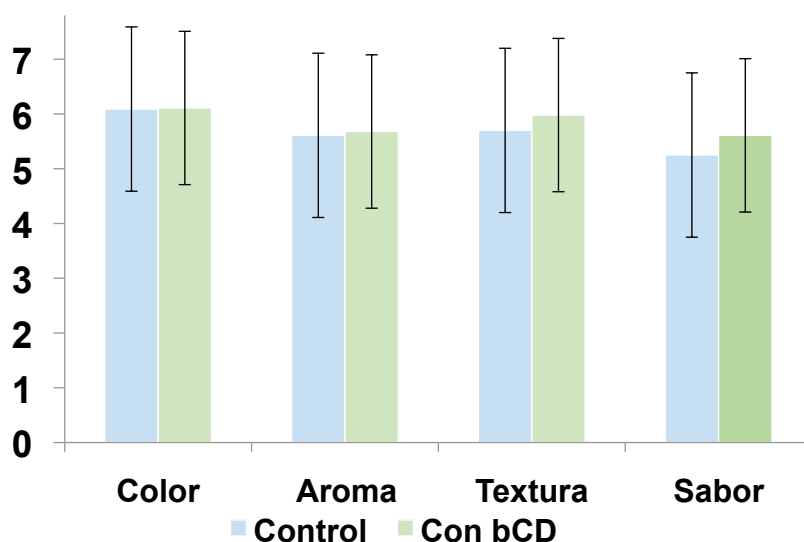
#### III.7.2. Pruebas afectivas

Las pruebas afectivas se utilizan para que un panelista exprese el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio y éstas emplean escalas de calificación de las muestras. En este trabajo investigamos el nivel de agrado de los quesos en forma



independiente en los atributos de color, aroma, textura y color. En la Fig. 11 se pueden observar los datos de la prueba de agrado entre los quesos control y aquél elaborado de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas. Se puede señalar que en los atributos analizados, no se presentó diferencia significativa ( $p>0.5$ ) en el nivel de agrado entre el queso control y el elaborado con leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas. Como se puede observar la media de agrado de los panelistas fue entre “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”.

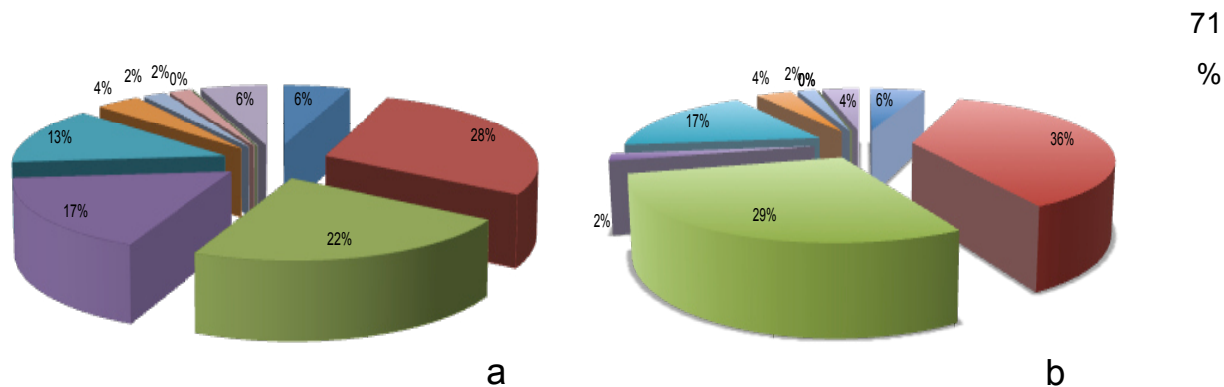
En el atributo de color de los quesos, la calificación obtenida para el queso control fue de  $6.09\pm1.29$  y para el queso elaborado de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas de  $6.11\pm1.22$ ; para el aroma, de  $5.61\pm1.57$  y  $5.68\pm1.38$ , respectivamente; para la textura de  $5.7\pm1.58$  y  $5.98\pm1.34$ , respectivamente y para el sabor de  $5.25\pm1.33$  y  $5.6\pm1.47$ , respectivamente. El análisis estadístico tipo *t de student* arrojó que no existe diferencia significativa en los atributos evaluados.



**Fig. 12. Análisis de agrado entre el queso preparado con leche entera sin (Control) y leche tratada con  $\beta$ CD (Con  $\beta$ CD).** Se realizó prueba de agrado para evaluar e color, aroma, textura y sabor del quesos contro (■) y el queso elaborado con leche tratada con  $\beta$ -CD (■). Se utilizaron los siguientes parámetros. Una vez realizado se realizó análisis estadístico (*t de student*). 1, Me disgusta mucho; 2, Me disgusta moderadamente; 3, Me disgusta ligeramente; 4, Ni me gusta ni me disgusta; 5, Me gusta ligeramente; 6, Me gusta moderadamente, y 7, Me gusta mucho. ( $n = 44$ ;  $p > 0.05$ ).

Por otra parte, se les preguntó a los panelistas el nivel de aceptación de los quesos control y aquél elaborado con leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas. Esta prueba se realizó en forma independiente para cada uno de los quesos. En la Fig 13a se puede observar que para

el caso del queso control, el 28 % de los panelistas lo comería frecuentemente (más de tres veces por semana) y el 22% lo comería ocasionalmente (una vez por semana). Cuando se realizó esta misma prueba, pero ahora para el queso elaborado con leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas, el 36 % de los panelistas lo comería frecuentemente (más de tres veces por semana) y el 29% lo comería ocasionalmente (una vez por semana) (ver Fig 13b). En conclusión, el 56 % de los panelista comería de 1 a 3 veces por semana el queso control y el



comería el queso elaborado con  $\beta$ -ciclodextrinas de 1 a 3 veces por semana. Estos resultados muestran que ambos fueron aceptados por el panel de jueces.

**Fig. 13. Aceptación del queso control y queso elaborado de leche entera tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas.** Los panelistas señalaron de las enunciados mencionados en la figura su actitud hacia el queso control (a) o queso elaborado sin tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas y (b) queso con remoción de colesterol (tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas). Se obtuvo el porcentaje del nivel de agrado sobre el consumo del queso (n= 44).

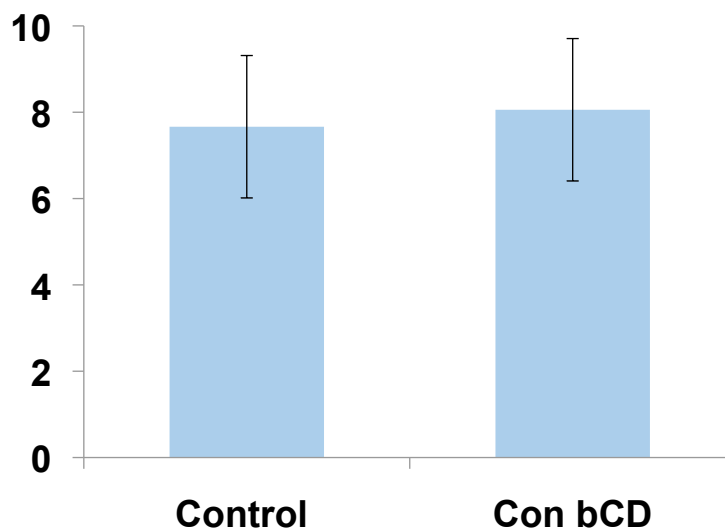
También, se les invitó a los panelistas que sugirieran cambios que pudieran realizarse en los quesos de tal manera que éstos mejorasen los atributos evaluados en las pruebas. En la Tabla 11 se presentan un concentrado de los comentarios emitidos por los panelistas. Cabe mencionar un al menos el 25 % de los jueces sugirieron agregar más cantidad de sal a ambos quesos.

**Tabla 11. Comentarios y sugerencias de los panelistas con respecto a cambios sugeridos para mejorar los quesos.**

<b>Atributo</b>	<b>Queso Control</b>	<b>Queso con <math>\beta</math>-CD</b>
<b>Sabor</b>	Sabor no tan ácido	Agregar mas sal
	Mejorar el sabor	Mejorar el sabor
	Sabor muy concentrado	Intensificar el sabor
	Un poco agrio, a mi gusto, aligerar un poco el sabor del queso	Sabor muy agrio para mi gusto y fue difícil de separar
	Intensificar el sabor	Le daría sabor menos ácido
<b>Color</b>	Agregar mas sal	Realzar el sabor del queso
	Modificar su color pálido	SC*
<b>Textura</b>	Cambiar su textura a que se desahaga más rápido	Textura un poco más suave
	Textura principalmente, se me hace muy seco.	Textura, consistencia
	En textura se siente menos elástico y más difícil de deshebrar en comparación con los otros	Hacerlo más compacto,
	Un poco mas de la textura	
<b>Aroma</b>	Aumentar un poco el aroma Aroma	Aumentar un poco el aroma Aroma
	Intensificar el aroma	Mayor textura

\* SC: Sin comentarios

Por último, se les solicitó a los paneles que emitieran una valoración global de cada uno de los quesos. En la Fig. 14 se puede observar que el queso control tuvo una calificación de  $7.66 \pm 1.59$  y el queso elaborado de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas de  $8.06 \pm 1.72$ . Puede concluirse que los dos quesos tuvieron una valoración aceptable.



**Fig. 14. Evaluación integral de los panelistas de los quesos control y con  $\beta$ -CD.** Se les solicitó a los panelistas que evaluaran de forma global los quesos control y el elaborado a partir de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas. La calificación fue de 1 a 10. (n = 44; p>0.05).

En síntesis, en este trabajo se logró elaborar un queso asadero con bajo contenido de colesterol mediante el uso de remoción de éste con tratamiento de la leche con  $\beta$ -ciclodextrinas. Dicho queso presentó características fisicoquímicas similares al queso control. Además, el análisis sensorial arrojó que los atributos de color, sabor, aroma y textura fueron indistinguibles entre ambos casos y como se señaló anteriormente, su aceptación fue buena. Por lo tanto, se acepta la hipótesis planteada.

Definitivamente, la elaboración de un queso asadero con bajo contenido en colesterol es una muy buena opción para incluir este alimento en la dieta del consumidor que desea cuidar la ingesta de colesterol recomendado por la Organización Mundial de la Salud.

#### IV. DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares causaron más de 18 millones de muertes en el mundo en 2005. De estas muertes, ocho millones (44%) ocurrieron en personas menores de 60 años de edad y el 80% tuvo lugar en países de bajos y medianos ingresos. En respuesta, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha fijado la meta de reducir la tasa mundial de mortalidad por enfermedades crónicas en un 2% al año hasta 2015. Este objetivo se basa en el reconocimiento de que las muertes mundiales por causas cardiovasculares son atribuibles a algunos factores de riesgo modificables, por ejemplo, la presión arterial alta, (la más importante), el tabaquismo y el colesterol total sérico alto. Se ha reportado que la reducción de los niveles de colesterol sérico total es una estrategia ideal para reducir la carga de la enfermedad cardiovascular (revisado por Roth et al., 2011). Como ya se mencionó antes, la Organización Mundial de la Salud, la Asociación Americana del Corazón, así como la Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012 han sugerido que el colesterol de la dieta debe restringirse para ingerir  $\leq 300$  mg/día (revisado por Schaefer; Secretaría de Salud, 2012).

Debido a lo anterior muchos consumidores están preocupados por el consumo excesivo de colesterol y grasas en su dieta diaria, lo que ha traído como consecuencia un aumento dramático en el número de productos sin colesterol, reducido o bajo contenido de éste (revisado por Schroeder y Baer, 1990).

Algunos métodos para la reducción del colesterol de productos lácteos incluyen extracción con solventes (Larsen y Froning 1981), extracción supercrítica con fluidos (Arul et al., 1988) y adsorción con saponinas para formar complejos (Micich, 1990). Sin embargo, una desventaja importante del uso de solventes es que otros lípidos también pueden ser extraídos junto con colesterol, además que las proteínas podrían desnaturalizarse. Adicionalmente, muchos de los solventes no son selectivos y podrían remover componentes nutricionales y componentes responsables de sabor, además de que son costosos.

Desde hace más de 25 años se han venido utilizando de forma muy efectiva las  $\beta$ -ciclodextrinas en polvo para la remoción de colesterol en productos lácteos (Oakenfull y Sidhu, 1991; Ahn y Kwak, 1999; Lee et al., 1999; 2012; Kwak et al., 2002; 2004; Shim et al., 2003; Kim et al., 2005). La  $\beta$ -ciclodextrina es oligosacárido cíclico compuesto de unidades de glucosa unidas por enlaces ( $\alpha 1-4$ ). Presenta una cavidad hidrofóbica en su estructura molecular en la cual se forma un complejo con diferentes compuestos incluyendo al colesterol

(Szejtli, 1998; Sharma y Baldi, 2014). La  $\beta$ -ciclodextrina es una molécula no tóxica, edible, no higroscópica, muy poco soluble en agua y es muy fácil de separar del complejo (Nagatomo, 1985). Está considerada como un compuesto GRAS (“Generally Recognized As Safe”) desde 1991, así como por la FDA como alimento no tóxico (GRAS Notice no. 000074) y tiene el número E459 en el Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS, 2015).

En este trabajo elaboramos queso asadero con bajo contenido en colesterol sin afectar el contenido de grasas totales. Para lograr esto, realizamos dos estrategias. La primera de éstas fue la remoción del colesterol de la crema una vez retirada ésta de la leche entera mediante separación por densidad o con el uso de un separador manual. Bajo nuestras condiciones de ensayo, logramos la remoción de colesterol de aproximadamente el 90 % cuando la crema se incubó con  $\beta$ -ciclodextrinas al 10 % por 2 h a 40 °C con agitación rotatoria. Sin embargo, cuando se determinó el colesterol una vez elaborado el queso asadero no se observó diferencia significativa en la concentración del colesterol entre el queso asadero elaborado con el tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas y el queso asadero control. La remoción satisfactoria de colesterol de diferentes tipos quesos previo al tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas ha sido por publicado por diferentes autores. Kim et al. (2005) y Han et al. (2008) reportaron la remoción de colesterol del 92 % y 91 % de queso crema, respectivamente, cuando trataron la crema separada de la leche entera con un separador de crema y posterior mezcla con la leche descremada. También, Kim et al. (2008), Jung, Ko y Kwak (2013) y Seon et al. (2009) reportaron la eliminación del 90.6 % de colesterol cuando elaboraron queso Camembert, queso Gouda y queso Cheddar, respectivamente, utilizando el procedimiento descrito antes. La obtención de quesos asaderos elaborados sin y con tratamiento de la crema con  $\beta$ -ciclodextrinas, con cantidades similares de colesterol se debió a las condiciones del método empleado en este trabajo para la separación de la crema de la leche. Esto es, aunque se utilizó un separador de crema manual, no se obtuvo una separación completa de ésta de la leche entera y por lo tanto, se quedó una cantidad alta remanente de colesterol en la leche parcialmente descremada. La anterior no fue tratada con las  $\beta$ -ciclodextrinas trayendo como consecuencia queso asadero con colesterol. Una de las diferencias de la discrepancias de nuestros resultados con los ya reportados pudo haber sido

el tipo de separador de crema empleado, otra fue la temperatura empleada por los autores ya que ellos utilizaron temperaturas de 40-50 °C y en este trabajo se utilizó leche mantenida a 4 °C y, quizás otra diferencia importante fue la velocidad de centrifugación del separador de crema entre la reportada y la efectuada en este trabajo, ya que se requiere de una alta velocidad de centrifugación para separar la crema de la leche, la que no se pudo controlar en este trabajo.

Por otra parte, otros autores han utilizado la remoción del colesterol de la leche entera con  $\beta$ -ciclodextrinas sin la separación previa del crema antes de la elaboración de diferentes tipos de quesos, logrando quesos con una remoción de colesterol del 75 al 79 % (Kwak et al., 2001 y 2003). En este trabajo, se desarrolló un proceso para la elaboración de queso con bajo contenido en colesterol (Fig. 15) cuando se utilizó leche entera tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas y se logró una remoción del colesterol en el queso asadero del 47 % ( $29.1 \pm 15.4$  g/100 g de queso). Este valor está por debajo de los valores reportados por otros autores, esto debido a que las condiciones de agitación de la leche con las  $\beta$ -ciclodextrinas fueron muy diferentes. Kwak et al. (2001 y 2003) utilizaron una licuadora y en este trabajo se utilizó agitación manual con varilla. Este tipo de agitación no logró exponer todo el colesterol presente en los glóbulos de grasa para que pudiera ser atrapado por las ciclodextrinas y por lo tanto, bajado como consecuencia su total inserción en éstas. Sin embargo, se logró obtener un queso asadero con bajo colesterol (20mg/50 g de producto) como lo describe la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994a).

La Secretaría de Salud en la NOM-037-SSA2-2002, *“Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias”* (Secretaría d Salud, 2002) con respecto al aporte calórico de los nutrientes de los alimentos, ha recomendado para prevención de dislipidemias lo siguiente: 25 a 35 por ciento de las grasas, de las cuales no más del 10 por ciento corresponderá a las saturadas; 50 a 60 por ciento de los carbohidratos complejos, ricos en fibras solubles y no más del 20 por ciento de las proteínas, además de consumir menos de 300 mg de colesterol por día. Si tomamos en cuenta que en la dieta de la población mexicana se consume queso en diferentes preparaciones como quesadillas, enchiladas, queso guisado, etc., Entonces, por ejemplo, si se prepararan tres quesadillas con el queso asadero elaborado con leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas, sólo se estaría consumiendo 30 mg de colesterol o el 10 % del total recomendado, lo que ayudaría a no privarse de este tipo de alimento en la dieta y que un

mayor número de individuos no rebasen la cantidad de colesterol sugerida por la Norma Oficial Mexicana.

Uno de los objetivos de este trabajo fue que el queso asadero con bajo colesterol obtenido a partir de leche entera tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas mantuviera todas sus características fisicoquímicas similares al queso elaborado sin tratamiento de la leche con las  $\beta$ -ciclodextrinas. No se presentaron diferencias significativas entre la cantidad de humedad, grasas y proteínas de los quesos elaborados a partir de la leche tratada o no con  $\beta$ -ciclodextrinas. Cabe mencionar que la cantidad de grasas obtenida (aprox. 15 g/100g) para ambos quesos es menor que la reportada en este tipo de quesos por otros autores (23 g/100g) (Guisa, 1999; García-Islas, 2006). Independientemente de estos valores obtenidos para las grasas, podemos concluir que el tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas sólo afectó la concentración de colesterol en los quesos.

Se investigó la presencia de microorganismos como lo especifica la Norma Mexicana. Entre los microorganismos investigados, coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, mohos y levaduras, los resultados de *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* fueron negativos y el número de unidades formadoras de colonias *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras fue menor a los valores establecidos en la NOM-243-SSA1-2010 (Secretaría de Salud, 2010). Sin embargo, el número de unidades formadoras de colonias de los organismos coliformes fue superior a las especificaciones establecidas en la Norma, debido muy probablemente a la manipulación durante la elaboración de los quesos. Este número disminuyó durante el almacenamiento para llegar a valores permitidos, menos de 100 UFC/g, a los 30 días de almacenamiento. Aunque se tuvo mucho cuidado en trabajar en condiciones higiénicas y con materiales sanitizados, los resultados nos indican que se requiere reforzar estas condiciones y trabajar con una limpieza rigurosa durante la fabricación del queso para evitar la contaminación bacteriana de éste.

En el diseño de un producto alimenticio nuevo o modificado es importante considerar lo que agrada, desagrada y/o las preferencias de los consumidores a quienes se va a destinar dicho producto. Para lograr un mejor desarrollo de nuevos productos alimenticios, el conocimiento científico y objetivo del consumidor es un referente obligado, éste se logra aplicando técnicas combinadas de investigación de mercados y análisis sensorial (Mora et al., 2006). El análisis sensorial es la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e



interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Lawless y Heymann, 2010). Esta disciplina comprende un conjunto de técnicas para la evaluación precisa de las respuestas humanas a los alimentos e intenta aislar las propiedades sensoriales y aportar información útil para el desarrollo de productos.

Las pruebas de análisis sensorial, tomando en cuenta las preferencias de los consumidores, son un auxiliar de suma importancia para el control y mejora de la calidad de los alimentos. Meilgaard et al. (1991). han reportado que estas pruebas deben realizarse exclusivamente con consumidores y no con evaluadores entrenados. En este sentido, en este trabajo se escogió un panel de jueces evaluadores no entrenados para apoyarnos con el análisis sensorial de los quesos. La característica primordial que se quería investigar era si la remoción del colesterol podría cambiar la percepción de los atributos como sabor, aroma, color y textura. Para esto, se realizó una prueba de diferenciación triangular para investigar si los evaluadores eran capaces discriminar el queso diferente cuando se presentan tres muestras de quesos, dos idénticas, por ejemplo, del queso control y la otra, del queso bajo colesterol y viceversa. Esta prueba se utilizó para los panelistas pudieran señalar el queso diferente en cada uno de los atributos antes mencionados. Con el análisis estadístico de Chi-cuadrada se concluyó que los panelistas no fueron capaces de diferenciar entre los atributos, sabor, aroma, color y textura de los quesos control y el queso bajo en colesterol, por lo tanto, podemos sugerir que la remoción del colesterol con las  $\beta$ -ciclodextrinas no modificó alguno de estos atributos, en contraste con los resultados de Kwak, Nam y Ahn (2001) quienes reportaron el queso Mozzarella reducido en colesterol mostró una disminución en la estrechabilidad y textura comparado con el queso control. También, Kim et al. (2005) reportaron que en el queso crema reducido en colesterol no se modificaron los atributos de sabor y textura comparados con el queso control, pero, el queso reducido en colesterol resultó menos amargo que el queso control. Por otra parte, se ha reportado que queso Cheddar con reducción del colesterol en un 80 %, no presentó pérdida de su sabor (Kwak, Jung, Shim y Ahn, 2002; Kwak, Jung, Seok y Ahn, 2003; Seon, Ahn y Kwak, 2009). Sin embargo, estos autores no hacen referencia a otros atributos.

Otra característica importante que se quiso investigar en este trabajo fue el nivel de agrado o satisfacción y de aceptación de los dos quesos. El uso de la escala hedónica nos permitió, aparte de medir preferencias, medir la aceptación de los quesos. En este trabajo

investigamos el nivel de agrado de los dos quesos en forma independiente en los atributos de color, aroma, textura y color. En la evaluación de tres lotes de quesos diferentes, no se encontró diferencia significativa ( $p>0.5$ ) en el nivel de agrado entre el queso control y el queso con bajo colesterol. Además, la media de agrado de los panelistas fue entre “me gusta ligeramente” (5) y “me gusta moderadamente” (6) para los dos queso. Esto sugeriría que La eliminación del colesterol con el tratamiento con la  $\beta$ -ciclodextrina no afecta el nivel de agrado del queso por lo que queso control y el queso con bajo contenido en colesterol podrían ser aceptados en la dieta diaria.

Cuando se pretende desarrollar un producto de esta índole en donde se va a obtener un beneficio en la salud es importante realizar análisis de costos para considerar la producción industrial. Por ejemplo, para la elaboración de 10 Kg de queso asadero a partir de 100 L de leche tratada con  $\beta$ -ciclodextrinas aumentaría en aproximadamente \$500 pesos para 1000 g de  $\beta$ -ciclodextrinas. El costo por Kg de este tipo de queso asadero aumentaría en un 20% (\$150.00) con respecto a un queso elaborado sin tratamiento con  $\beta$ -ciclodextrinas (\$125.00). Puede observarse que la elaboración del queso es costoso, debido al alto costo de la  $\beta$ -ciclodextrinas y al proceso no efectivo de su recuperación, aunque en procesos a mayor escala y compras de las b-ciclodextrinas en cantidades más altas estos costos pudieran reducirse. Otro forma para reducir el costo se podrían reciclar las  $\beta$ -ciclodextrinas, aunque se ha reportado por Kwak et al. (2004) que la remoción del colesterol fue del 40 % cuando se utilizaron éstas unidas a perlas de vidrio en una segunda ocasión. Sin embargo se han utilizado  $\beta$ -ciclodextrinas modificadas e inmovilizadas en superficies de vidrio con lo que se ha logrado la remoción hasta de 75 % del colesterol en la leche y su reutilización hasta de 8 veces sin perder la capacidad para eliminar el mismo porcentaje del colesterol en cada uno de los pasos (Tahir et al., 2013; Tahir y Lee, 2013).

Los resultados de aceptación de los quesos con bajo contenido en colesterol estimulan a escalar esta metodología en planta piloto y poder obtener productos nutritivos con gran tradición en la cultura alimentaria sin el contenido de colesterol que podría ser de riesgo para la salud de los consumidores.

#### IV. CONCLUSIONES

1. El uso de  $\beta$ -ciclodextrinas permiten una eliminación de colesterol en quesos en diferente nivel de acuerdo a la tecnología utilizada, al mezclar con la leche o con la crema separada de la leche y su posterior reincorporación a la leche.
2. El nivel de reducción de colesterol en el queso permite desarrollar un queso con bajo contenido de colesterol o reducido en colesterol (por presentar un 25% menos que el original).
3. Los quesos asaderos control y bajo en colesterol son quesos muy bien aceptados por los consumidores.
4. Las  $\beta$ -ciclodextrinas sólo removieron el colesterol de la leche y no afectaron las características fisicoquímicas ni los atributos de sabor, aroma, color y textura, ya que el queso asadero bajo en colesterol es indistinguible del queso asadero control.

## **VI. PERSPECTIVAS**

1. Elaborar quesos con menor contenido de colesterol mediante la remoción más efectiva de éste de la leche aumentando la velocidad de interacción de la  $\beta$ -ciclodextrinas con la leche entera.
2. Reforzar las condiciones de higiene durante la preparación de los quesos para disminuir el número de coliformes en los productos.
3. Evaluación del efecto en el perfil de lípidos en animales experimentales y/o humanos utilizando un queso reducido en colesterol.
4. Buscar alternativas en la reutilización de  $\beta$ -ciclodextrinas para disminuir el costo de elaboración de queso asadero con bajo contenido en colesterol.

## VII. REFERENCIAS

1. Adams, M.L., Sullivan, D.M., Smith, R.L. y Richter, E.F. (1986). Evaluation of direct saponification method for determination of cholesterol in meats. *J. AOAC* 69, 844–846.
2. Alonso, L., Cuesta, P., Fontecha, J., Juarez, M. y Giililand, S.E. (2009). Use of  $\beta$ -cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat. *J Dairy Sci*, 92, 863-869.
3. Ahn, J. y Kwak, H.S. (1999). Optimizing cholesterol removal in cream using  $\beta$ -cyclodextrin and response surface methodology. *J. Food Sci*, 64, 629-632.
4. Anzadúa-Morales, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. Zaragoza, España: Ed. Acribia, S.A. pp. 198
5. AOAC. (1991). AOAC Official Method 991.14: Coliform and *Escherichia coli* counts in foods. *J AOAC Int*, 74, 635.
6. AOAC. (1995). Official Method 926.08/935.42: moisture in cheese/ash of cheese. En: *Official methods of analysis of AOAC international*. 16 ed. Gaithersburg. p. 58-59. v. 2.
7. AOAC. (2000a). AOAC Official Method 944.10. Cholesterol in Foods. Direct saponification-Gas Chromatographic Method. First Action 1994. Ed.: *AOAC International*.
8. AOAC. (1997). Official Method 997.02: Yeast and mold counts in foods, dry rehydratable film method (Petrifilm for Yeast and Molds). *J. AOAC Int*, 80, 806 .
9. AOAC. (2000b). Official Method 995.22. Listeria in foods. Colorimetric polyclonal enzyme immunoassay screening method (TECRA Listeria Visual Immunoassay [TLVIA]). Chapter 17.10.06, pp. 152-155 In: *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. 17th Edition. W. Horwitz. Volume 1. Agricultural Chemicals, Contaminants and Drugs. *AOAC International*, Gaithersburg, MD.
10. AOAC. (2002). Official Method 920.39. Crude fat or ether extract: animal feeds. In *AOAC Official Methods of Analysis*, 17th edition: Revision 1. Horwitz, W., Ed.: *AOAC Int*
11. AOAC (2003). Official Method 2003.08. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in selected dairy foods 3MTM Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method. First Action . *J. AOAC Int* 86, 965–966.
12. AOAC. (2005). Official Method 990.03. Protein (Crude) in animal feed, Combustion Method, in *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th Edition (2005). Revision 1, 2006, Chapter 4, pp. 30-31. *AOAC International*, Arlington, VA.
13. AOAC. (2014). 3M's OMA Number 2004.1. Petrifilm salmonella express system. 3M's Salmonella system receives AOAC OMA validation. Recuperado de: [http://www.foodqualitynews.com/Industry-news/3M-Petrifilm-Salmonella-Express-System-gets-AOAC-OMA-Validation?utm\\_source=copyright&utm\\_medium=OnSite&utm\\_campaign=copyright](http://www.foodqualitynews.com/Industry-news/3M-Petrifilm-Salmonella-Express-System-gets-AOAC-OMA-Validation?utm_source=copyright&utm_medium=OnSite&utm_campaign=copyright)

14. Arul, J., Boudreau, A., Makhlouf, J., Tardif, R. y Grenier, B. (1988). Distribution of cholesterol in milk fat fractions. *J Dairy Res*, 55(3), 361–371.
15. Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J.C., Rial-Otero R. y Simal-Gándara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23, 1631–1640.
16. Badui, S. D. (2013). *Química de los Alimentos*. 5ª ed. México: Pearson.
17. Bae, H.Y., Kim, S.Y. y Kwak, H.S. (2008). Comparison of cholesterol-reduced Camembert cheese using cross-linked  $\beta$ -cyclodextrin to regular Camembert cheese during storage. *Milchwissenschaft*, 63(2), 153–156.
18. Bello L., J.M., Lizeldi B.V, González, E., Manzo S.A., Nochebuena P.X., Quiñones-Ramírez, E.I. y Vázquez Salinas, C. (2004). Productos lácteos. La ruta de la metamorfosis *Rev Digital Universitaria*, 7 (6). Recuperado de: <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art89/int89.htm>
19. Bérodier F., Lavanchy P., Zannoni M., Casals J., Herrero L., Adamo C. (1997) *Guida per la valutazione olfattogustativa dei formaggi a pasta dura e semidura*, Poligny, Francia: G.E.CO.TE.F.T.,
20. Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity*. 2nd Edición. Geneva, New York, USA: Academic Press. 7:257-260.
21. British Standard Institution. (1986). 59-29: *Methods for Sensory Analysis of food. Part 1: General guide to methodology*. Londres.
22. Carpenter, R.P., David, H.L. y Terry, A.H. (2000). *Guidelines for sensory analysis in food product development and control*. Gaithersburg, MD, USA: Aspen Publiiser, Inc. pp 210.
23. Cervantes-Escoto, F., Villegas de Gante, A., Cesín-Vargas, A. y Espinoza-Ortega, A. (2008). *Los quesos mexicanos genuinos: Patrimonio que debe rescatarse*. 1ª. ed. México: Mundi-Prensa.
24. Cofan-Pujol M. (2014). Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. *Clin Invest Arterioscl*. Recuperado: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2013.10.008>
25. Costel, E., Fiszman, M.S. y Duran, L. (1997). *Propiedades Físicas I. Reología de sólidos y textura. Técnicas en Tecnología de Alimentos*. Vol. I. México: Dirección de Publicaciones Materiales Educativos Tresguerras. pp: 215-259.
26. Escobedo-de la Peña, J., Pérez, R. de J., Schargrotsky, H. y Champagne, B. (2014). Prevalencia de dislipidemias en la ciudad de México y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular. Resultados del estudio CARMELA. *Gaceta Méd México*, 150,128-136.
27. Dinh, T.T.N., Thompson, L.D., Galyean, M.L., Brooks, J.C. y Boylan, M.L. (2012). Determination of total cholesterol in meat and poultry by gas chromatography: single-laboratory validation. *J AOAC Intern*, 95 (2), 482-488.

28. Drake, D.J., Boylston, T.D. y Swanson, B.G. (1996). Fat mimetics in low-fat Cheddar cheese. *J Food Sci*, 61, 1267-1271.
29. Emmons, C.A., Sutherland, B.J. y Lowrie, R. (1980). Milk gel structure X. Texture and microstructure in Cheddar cheese made from whole milk and homogenized low fat milk. *J Texture Stud*, 11,15-34.
30. Ferrebee, C.B. y Dawson, P.A. (2015). Metabolic effects of intestinal absorption and enterohepatic cycling of bile acids. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(2), 129–134.
31. Ferrell, J.M. y Chiangn, J.Y.L. (2015). Circadian rhythms in liver metabolism and disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(2), 113–122.
32. Galicia-Garnica, J.C. (2005). Atributos sensoriales de algunos quesos menonita producidos en la zona noroeste del estado de Chihuahua. Tesis Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Chih. México.
33. Galván-Díaz, M.P. (2005). Proceso básico de la leche y el queso. Revista Digital universitaria 6 (9). Recuperado de: <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art87/int87.htm>
34. García-Islas, B. (2006). Caracterización físico-química de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo con el fin de proponer normas de calidad. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hgo. México.
35. Garcia-Rojas, E.E., dos Reis-Coimbra, J.S., Minim, L.A. y Freitas, J.F. (2007). Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. *Carbohydrate Polymers*, 69(1), 72–78.
36. Gilliland, S.E., Nelson, S.R. y Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 49(2), 377 – 381.
37. González-Martínez, B.E. (2005). Queso fresco como vehículo para microorganismos probióticos y su efecto sobre el crecimiento de *Salmonella enteritidis* var. *typhimurium*, Compendio de Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
38. González Martínez, M.T. (2013). Evaluación del desarrollo de aminas biógenas en queso Chihuahua durante la vida de anaquel. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, España.
39. González-Vivanco, P. (2002). *EL queso y su ilustre familia: Los quesos artesanos aragoneses*. Institución «Fernando El Católico» Excma . Diputación de Zaragoza. Recuperado: [http://ifc.dpz.es/recursos/publicaciones/22/06/\\_ebook.pdf](http://ifc.dpz.es/recursos/publicaciones/22/06/_ebook.pdf)
40. Grundy, S.M., Barrett-Connor, E., Rudel, L.L., Miettinen, T. y Spector, A.A. (1988). Workshop on the impact of dietary cholesterol on plasma lipoproteins and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 8,95-101

41. Guisa, F.L. (1999). Types of Mexican cheeses. Exploring cheeses of México and Latin America. Artisan course. University of Wisconsin, Madison. EE.UU.
42. Guyton A.C. y Hall, J.E. (2001). *Tratado de Fisiología Médica*. México: McGraw-Hill Interamericana.
43. Ha, H.J., Ahn, J., Min, S.G. y Kwak, H.S. (2009). Properties of cholesterol-reduced ice cream made with cross-linked  $\beta$ -cyclodextrin. *Intern J Dairy Technol*, 62, 452-457.
44. Ha, H.J., Lee, J.E., Chang, Y.H. Y Kwak, H.S. (2010). Entrapment of nutrients during cholesterol removal from cream by crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin. *Intern J Dairy Technol*, 63, 119-126.
45. Han, E.M., Kim, S.H., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2007). Optimizing cholesterol removal from cream using  $\beta$ -cyclodextrin cross-linked with adipic acid. *Intern J Dairy Technol*, 60, 31-36.
46. Han, E.M., Kim, S.H., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2008). Comparison of cholesterol reduced cream cheese manufactured using crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin to regular cream cheese. *Asian-Australasian J Animal Sci*, 21(1), 131– 137.
47. Hervás-Serra, A. (2012). El mercado del queso en México. *Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México*. España: Instituto Español de Comercio Exterior.
48. Izutzu, T., y Wani, K. (1985). Food texture and taste. A review. *J. Texture Stud*, 16,1-28.
49. Jellinek, G. (1985). *Sensory Evaluación of Food*. Gran Bretaña: Camelot Press.
50. Jung, H.-J., Ko, E.-J. y Kwak, H.-S. (2013). Comparison of physicochemical and sensory properties between cholesterol-removed Gouda cheese and Gouda cheese during ripening. *Asian Australasian J. Animal Sci*, 26 (12), 1773-1780.
51. Jung, T.H., Kim, J.J., Yu, S.H., Ahn, J., y Kwak, H.S. (2005). Properties of cholesterol-reduced butter and effect of gamma linolenic acid added butter on blood cholesterol. *Asian-Australasian J Animal Sci*, 18(11), 1646–1654.
52. Keys, A., Anderson, J.T. y Grande, F. (1957). Prediction of serum-cholesterol responses of men to changes in fat in the diet. *Lancet*, 2, 959-966.
53. Kim, J.J., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2004). Crosslinking of beta-cyclodextrin on cholesterol removal from milk. *Arch Pharm Res*, 27, 1183-1187.
54. Kim, S.H., Han, E.M., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2005). Effect of crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin on quality of cholesterol-reduced cream cheese. *Asian-Australasian J Animal Sci*, 18(4), 584–589.
55. Kim, H.Y., Bae, H.Y. y Kwak, H.S. (2008). Development of cholesterol-reduced Blue cheese made by crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin. *Milchwissenschaft*, 63(1), 53–56.



56. Kim, J.J., Jung, T.H., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2006). Properties of cholesterol-reduced butter made with beta-cyclodextrin and added evening primrose oil and phytoesters. *J Dairy Sci*, 89, 4503-4510.
57. Kurkov, S.V. y Loftsson, T. (2013). Cyclodextrins. *Intern J Pharma*, 453, 167– 180.
58. Kwak, H.S., Nam, C.G. y Ahn, J. (2001). Low cholesterol Mozzarella cheese obtained from homogenized and  $\beta$ -cyclodextrin-treated milk. *Asian-Australasian J Animal Sci*, 14, 268–275.
59. Kwak, H.S., Jung, C.S., Shim, S.Y. y Ahn, J. (2002). Removal of cholesterol from Cheddar cheese by  $\beta$ -cyclodextrin. *J Agric Food Chem*, 50, 7293–7298.
60. Kwak, H.S., Jung, C.S., Seok, J.S. y Ahn, J. (2003). Cholesterol removal and flavor development in Cheddar cheese. *Asian-Australasian J Animal Sci*, 16(3), 409–416.
61. Kwak, H.S., Kim, S.H., Kim, J.H., Choi, H.J. y Kang, J. (2004). Immobilized beta-cyclodextrin as a simple and recyclable method for cholesterol removal in milk. *Arch Pharm Res*, 27, 873-877.
62. Lara, A., Rosas, M., Pastelín, G., Aguilar, C. y Attie, F. y Velázquez-Monroy, O. (2004). Hipercolesterolemia e hipertensión arterial en México. Consolidación urbana actual con obesidad, diabetes y tabaquismo. *Arch Cardiol México*, 74, 231-245.
63. Larsen, J.E. y Froning, G.W. (1981). Extraction and processing of various components from egg yolk. *Poultry Sci*, 60(1), 160–167.
64. Lavanchy, P., Berodier, F., Zannoni, M., Noel, Y., Adamo, C., Squella, J. y Herrero, L. (1994). *A Guide to the Sensory Evaluation of Texture of Hard and Semi-Hard Cheeses*. Paris, Francia: INRA,
65. Lawless, H.T. y Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices*. 2nd ed. New York: Springer,
66. Lee, D.K., Ahn, J. y Kwak, H.S. (1999). Cholesterol removal from homogenized milk with beta-cyclodextrin. *J. Dairy Sci*, 82, 2327-2230.
67. Lee, Y. K., Ganesan, P. y Kwak. H.S. (2012). Optimisation of cross-linking b-cyclodextrin and its recycling efficiency for cholesterol removal in milk and cream. *Intern J Food Sci Technol*, 47, 933–939.
68. Luquet, M. F. (1991). *Leche y Productos Lácteos Vaca-Oveja-Cabra*. Zaragoza, España: Acribia, S. A.
69. Martínez G. y Gómez, M.A. (2007). Ciclodextrinas: complejos de inclusión con polímeros. *Rev Iberoamericana Polímeros*, 8(4), 300-312.
70. Mataix, J. y Vidal-Carou, M.C. (2009). Alimentos ricos en lípidos. En: *Nutrición y alimentación humana. I. Nutrientes y alimentos*. 2da. ed. Madrid: Ergon.

71. McEwan, J., Moore, J. y Colwill, J. (1989). The sensory characteristics of Cheddar cheese and their relationship with acceptability. *J Soc Dairy Tech*, 42, 112-117.
72. Meilgaard, M., Carr, B.T y Civille, G.V. (1991). *Sensory Evaluation Techniques*. 2ª ed. USA: CRC Press, p 354.
73. Micich, T.J. (1990). Behavior of polymer-supported digitonin with cholesterol in the absence and presence of butter oil. *J Agric Food Chem*, 38(9), 1839–1843.
74. Mora, M., Infante, R., Espinoza, J.A. y Predieri, S. (2006). Actitudes y preferencias de consumidores chilenos e italianos hacia los damascos. *Economía Agraria*, 10(1), 83 - 96.
75. Murray, R.K., Bender, D.A., Botham, K.M., Kennelly, P.J., Rodwell, V.W. y Weil, P.A. (2009). *Harper Bioquímica Ilustrada*. México: McGraw Hill.
76. Nagatomo, S. (1985). Cyclodextrins-expanding the development of their functions and applications. *Chem Econ Engin Rev*, 17, 28-34.
77. NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS CODEX STAN 192-1995 (2015). CODEX ALIMENTARIUS. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Organización mundial de la Salud. Recuperado de: [http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS\\_192s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf)
78. Oakenfull, D. G. y Sihdu, G. S. (1991). Cholesterol reduction. *Commonwealth scientific and industrial research organization*, Int. Pat. No. 91/11114.
79. Pérez, C. M., Bourne, M. y Juliano, B.O. (1996). Measuring hardness distribution of cooked rice by single-gain puncture. *J Texture Stud*, 27 (1):1-14.
80. Potter, N. N. (1986). *Food Science*. 4th ed. Connecticut, USA: AVI Publishing Company, Inc.
81. Potter N.N. y Hotchkiss, J.H. (1997). *Food Science*. New York, USA: Chapman y Hall. pp: 90-99.
82. Ramasamy, I. (2014) Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clin Chem Lab Med*, 52(12), 1695–1727.
83. Roth, G.A., Fihn, S.D., Mokdad, A.H. Aekplakorn, W., Hasegawa, T. y Lim, S.S. (2011). High total serum cholesterol, medication coverage and therapeutic control: an analysis of national health examination survey data from eight countries. *Bull World Health Organ*, 89, 92–101.
84. Rozycki, S., Colombatti, F., Spott, M.J., Costa, F.F., Lazzaroni, S. y Pavón, (2013). Obtención de leche entera sin colesterol mediante el uso de  $\beta$ -ciclodextrina. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, 68(394), 32-38.

85. Schaefer, E.J. (2002). Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr*, 75,191–212.
86. Schroder, B. G. y Baer, R. J. (1990). Utilization of cholesterol-reduced milk fat in fluid milks. *Food Technol*, Nov, 145-148.
87. Secretaría de Salud (1994a).- Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcoholicas con modificaciones en su composicion. Especificaciones nutrimentales. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/086ssa14.html>
88. Secretaría de Salud (1994b).- Norma Oficial Mexicana. NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>.
89. Secretaría de Salud. (1994c). Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>
90. Secretaría de Salud. (1994d). Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>
91. Secretaría de Salud. (1994e).- Norma Oficial Mexicana. NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>
92. Secretaría de Salud. (1994f). Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html>
93. Secretaría de Salud. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Recuperado de: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010)
94. Secretaría de Salud. (2012). Norma Oficial Mexicana. NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html>
95. Secretaría de Salud. (2013). Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Recuperado de: [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013)
96. Seon, K.H. Ahn, J. y Kwak, H.S. (2009). The accelerated ripening of cholesterol-reduced Cheddar cheese by crosslinked milk with beta-cyclodextrin. *J. Dairy Sci*, 92, 49-57.

97. Sharma, N. y Baldi, A. (2014). Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview. *Drug Deliv, Early Online*: 1–19, DOI: 10.3109/10717544.2014.938839.
98. Shim, S. Y., Ahn, J. y Kwak, H.S. (2003). Functional properties of cholesterol removed whipping cream treated by  $\beta$ -cyclodextrin. *J Dairy Sci*, 86, 2767–2772.
99. Stone, H., y Sidel, J.L. (1985). *Evaluation Practices*. New York, USA: Academic Press, Inc. p. 187-192.
100. Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev*, 98, 1743-1753
101. Tahir, M.N., Kwon, C., Jeong, D., Cho., Palk, S.R. y Jung, S. (2013). Cholesterol reduction from milk using  $\beta$ -cyclodextrin immobilized on glass. *J. Dairy Sci*, 67, 4191-4196.
102. Tahir, M.N. y Lee, Y. (2013). Immobilization of  $\beta$ -cyclodextrin on glass: characterization and application for cholesterol reduction from milk. *Food Chem*, 15, 475-481.
103. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) (2002). *Circulation*, 106:3143-3421.
104. United States Department of Agriculture (USDA). (2015). Agricultural Research Service National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. Recuperado de: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/nutrients/report?nutrient1=208&nutrient2=203&nutrient3=204&fg=&max=25&subset=0&offset=2800&sort=f&totalCount=8490&measureby=g>
105. US Federal Register. (2005). Alpha-cyclodextrin, beta-cyclodextrin, and gammacyclodextrin: exemption from the requirement of a tolerance. *US Federal Register*, 70(128), 38780–38785.
106. Voet D. y Voet, J. (2004). *Biochemistry*. 3rd. Edition. USA: John Wiley & Sons, Inc.
107. Wallimann P, Marti T, Fürer A, Diederich F. (1997). Steroids in Molecular Recognition. *Chem Rev*, 97, 1567-1608.